

# *Coxiella burnetii*, agent de la fièvre Q

Samira Boarbi, David Fretin et Marcella Mori

**Résumé :** La fièvre Q est une zoonose de répartition mondiale excepté la Nouvelle-Zélande. Elle est due à une bactérie intracellulaire : *Coxiella burnetii*. Cette infection passe souvent inaperçue car la manifestation principale de la forme aiguë de la maladie est un syndrome pseudogrippal spontanément résolutif. C'est l'épidémie qui a eu lieu aux Pays-Bas qui a attiré l'attention sur cette maladie qui était moins étudiée auparavant. Cette synthèse résume la description de la bactérie (taxonomie, cycle intracellulaire et génomique) mais également la maladie (description, diagnostic, pathogénie et épidémiologie). Enfin, la vaccination de l'humain et des animaux est également analysée.

**Mots-clés :** *Coxiella burnetii*, fièvre Q, épidémiologie, description, génomique.

**Abstract:** Q fever is a zoonosis of worldwide distribution with the exception of New Zealand. It is caused by an intracellular bacterium, *Coxiella burnetii*. The disease often goes underdiagnosed because the main manifestation of its acute form is a general self-limiting flu-like syndrome. The Dutch epidemics renewed attention to this disease, which was less considered before. This review summarizes the description of *C. burnetii* (taxonomy, intracellular cycle, and genome) and Q fever disease (description, diagnosis, epidemiology, and pathogenesis). Finally, vaccination in humans and animals is also considered.

**Key words:** *Coxiella burnetii*, Q fever, epidemiology, description, genomics.

## Historique

La fièvre Q fut décrite pour la première fois par le Dr Edward Derrick en 1937 après la survenue en août 1935 de maladies fébriles parmi des travailleurs d'abattoirs dans le Queensland en Australie (revu par [Derrick 1983](#)). Il nomma d'ailleurs cette maladie « Q fever » en référence à la première lettre du mot anglais « query » signifiant « question ». Le Dr Derrick inocula des cobayes avec de l'urine ou du sang de patients atteints de fièvre Q et les cobayes développèrent de la fièvre. Cependant, il fut incapable d'isoler l'agent responsable de cette fièvre et envoya un broyat de foie d'un cobaye infecté au Dr Frank Macfarlane Burnet à Melbourne. Accompagné du Dr Mavis Freeman, ils furent capables d'isoler l'organisme qui « semblait être une rickettsie » et l'appelèrent *Rickettsia burnetii* (revu par [Burnet et Freeman 1983](#)).

Aux États-Unis, durant la même période, les Drs Herald Cox et Gordon Davis découvrirent la même bactérie en étudiant les tiques, vecteurs potentiels de la fièvre des montagnes Rocheuses et de la tularémie dans le Montana. Le docteur Davis fit développer une maladie fébrile qui ne ressemblait pas à la fièvre des montagnes Rocheuses à des cobayes en les infestant avec des tiques sauvages. En référence au lieu de provenance des

tiques, cette maladie fut nommée fièvre de « Nine Mile » et la souche bactérienne de référence est également nommée « Nine Mile ». En mai 1938, le Dr Rolla Dyer, directeur de l'Institut National de Santé, rendit visite au Dr Cox dans le Montana pour voir les « *Rickettsiae* », nommées *Rickettsia diasporica*, qu'il avait cultivées en œufs embryonnés ([Wentworth 1955](#)). Dix jours plus tard, il devint malade avec des douleurs rétro-orbitaires, de la fièvre, des frissons et des sueurs. L'injection de son sang à des cobayes les rendit fébriles. Il s'agissait de la première infection accidentelle de personnel de laboratoire par la fièvre Q ([Marrie 1990](#)). Ainsi, aux États-Unis, un microorganisme infectieux avait été découvert mais la maladie qu'il causait était inconnue. Alors qu'en Australie, une nouvelle maladie était identifiée mais avec une étiologie inconnue. Il fut rapidement déterminé que l'agent causal était le même en Australie et aux États-Unis. En hommage aux découvreurs, cet agent infectieux fut nommé *Coxiella burnetii* ([Marrie 1990](#)). En 1955, Kaplan et Bertagna ont rapporté l'existence de la fièvre Q dans 51 pays des 5 continents, principalement chez les bovins, moutons, chèvres, et les humains ([Kaplan et Bertagna 1955](#)). Actuellement, *C. burnetii* a une distribution mondiale, excepté la Nouvelle-Zélande ([Maurin et](#)

Reçu le 21 août 2015. Révision reçue le 8 octobre 2015. Accepté le 28 octobre 2015.

**S. Boarbi, D. Fretin et M. Mori.** Centre d'étude et de recherches vétérinaires et agrochimiques (CERVA), Direction opérationnelle des maladies bactériennes, Zoonoses bactériennes des animaux de rente, Groeselenberg 99, 1180 Bruxelles, Belgique.

**Auteurs correspondants :** Samira Boarbi (courriel : [samiraboarbi@hotmail.com](mailto:samiraboarbi@hotmail.com)) et Marcella Mori (courriel : [Marcella.Mori@codacerva.be](mailto:Marcella.Mori@codacerva.be)).

Raoult 1999) et probablement la Polynésie française (Musso et al. 2014).

### La bactérie

L'agent de la fièvre Q partage de nombreuses propriétés physiologiques avec les Rickettsies (non cultivable sur milieu axénique, isolé à partir de tiques, petite taille, intracellulaire strict), ce qui explique son classement dans la famille des *Rickettsiaceae*, ordre des *Rickettsiales*. Au regard des méthodes de biologie moléculaire, cette classification a été revisitée. Des études phylogénétiques basées sur l'analyse de l'ARN ribosomal 16S placent la bactérie dans l'ordre des *Legionellales*, dans le groupe des *Gammaproteobacteria* (Stein et al. 1993). Sa classification actuelle est donc la suivante : *C. burnetii* faisant partie du genre *Coxiella* est placée dans le domaine des *Bacteria*, le phylum des *Proteobacteria*, la classe des *Gammaproteobacteria*, l'ordre des *Legionellales* et la famille des *Coxiellaceae* (Seshadri et al. 2003; Arricau-Bouvery et Rodolakis 2005). En plus de *C. burnetii*, le genre *Coxiella* comprend d'autres membres à savoir *C. cheraxi* (Tan et Owens 2000) et des organismes semblables à *Coxiella* identifiés chez les oiseaux et des espèces non vertébrées, notamment les tiques (Duron et al. 2015).

Au sein de l'espèce *burnetii*, différentes études suggèrent l'hypothèse qu'il pourrait y avoir des sous-types différents selon l'hôte (hypothèse de spécificité d'hôte). Celle-ci est supportée par le typage moléculaire de la bactérie et l'épidémiologie de la maladie (Leroy et al. 2011; Astobiza et al. 2012b; Santos et al. 2012; Tilburg et al. 2012; Mahamat et al. 2013; Mori et al. 2013; Pearson et al. 2014; Sulyok et al. 2014; Pinerio et al. 2015). Le critère du seuil de 70 % d'hybridation entre les ADN de 2 bactéries pour faire partie de la même espèce ainsi que les caractéristiques phénotypiques restent à être vérifiés (Thompson et al. 2013).

La transmission facile par aérosol, la faible dose infectante et la stabilité environnementale ont conduit à la classification de *C. burnetii* comme agent de bioterrorisme de catégorie B par le Centre pour le contrôle et la prévention des maladies (Center for Disease Control and Prevention, CDC) (CDC 2013). Cependant, cette classification pourrait être contestée compte tenu de sa difficulté de culture et de sa rare transmission interhumaine.

### Différenciation cellulaire

*Coxiella burnetii* est une petite bactérie intracellulaire (0,2 à 2  $\mu\text{m}$ ), pléomorphe, dont la paroi est semblable à celle des bactéries Gram négatives (Fournier et al. 1998). Les principales cellules cibles sont les macrophages (lympe et ganglions lymphatiques, rate, foie, poumons...), les monocytes circulant du sang (Baca et Paretsky 1983) et les trophoblastes (Ben Amara et al. 2010). Son existence dans des amibes libres a également été décrite (La Scola et Raoult 2001; Amitai et al. 2010) ainsi que sa persistance dans les adipocytes murins (Bechah et al. 2014). La division de *C. burnetii* est complexe et caractérisée par la

présence de 2 formes morphologiques correspondant à différentes phases de développement :

–Les variants de petite taille (en anglais « small cell variant »), mesurent de 0,2 à 0,5  $\mu\text{m}$ , et sont denses en microscopie électronique. Ce sont les formes capables de résister dans l'environnement (agents chimiques désinfectants, pH, température, dessiccation, pression osmotique) et ils sont métaboliquement peu actifs (Heinzen et al. 1999). Sous cette forme, *C. burnetii* peut survivre au moins 2 ans à  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  (McCaul et Williams 1981), au moins 7 jours dans l'eau ou le lait à température ambiante (Babudieri et Moscovici 1950), 150 jours dans le sol (Welsh et al. 1959) et plusieurs années dans la poussière (Tissot-Dupont et al. 2004; van Woerden et al. 2004).

–Les variants de grande taille, (en anglais « large cell variant »), sont représentés par de grosses cellules de forme allongée, mesurant de 0,7 à 2  $\mu\text{m}$ , polymorphes, peu denses et exclusivement intracellulaires, métaboliquement très actifs mais très fragiles dans le milieu extracellulaire (McCaul et Williams 1981).

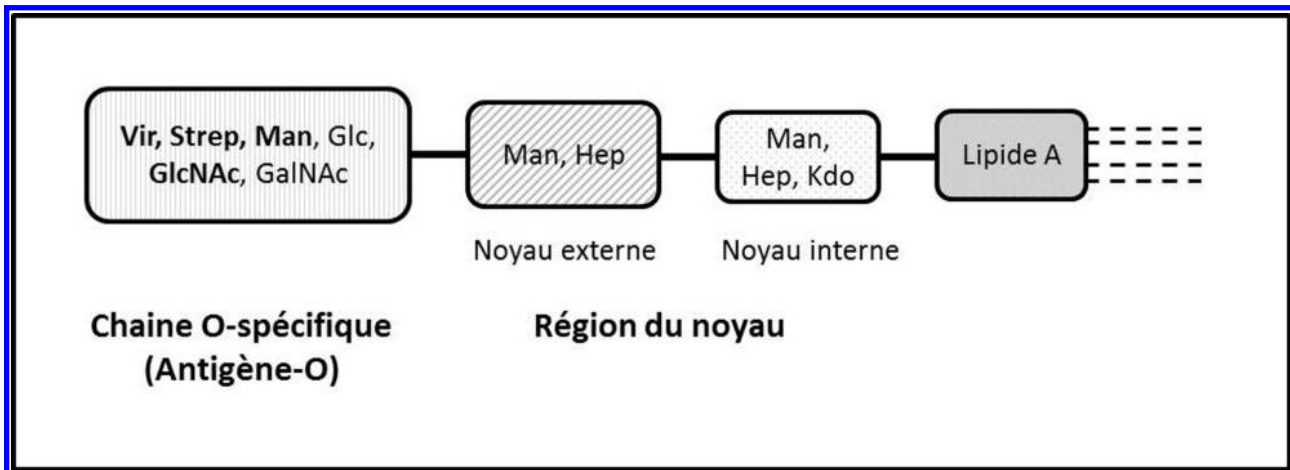
En plus des différentes formes cellulaires, *C. burnetii* présente une variation antigénique similaire aux variations lisses–rugueuses (« smooth–rough ») des entérobactéries.

### Variation de phase

*Coxiella burnetii*, comme les entérobactéries, peut faire varier la structure de son lipopolysaccharide (LPS), la phase I, virulente, présente un LPS lisse et la phase II, moins virulente, présente un LPS rugueux (Vishwanath et Hackstadt 1988). Contrairement aux entérobactéries, cette variation de phase n'est pas réversible. Par ailleurs, si on injecte une population mixte de *C. burnetii* phase I et phase II à un hôte immunocompétent (modèle animal), les bactéries en phase II, incapables d'infecter les cellules, sont éliminées. Ce qui laisse une population homogène de bactéries en phase I (Narasaki et Toman 2012). À l'état naturel, lorsque la bactérie est isolée à partir de prélèvements chez les animaux ou les humains, *C. burnetii* exprime un antigène LPS de phase I. Des anticorps contre le LPS de phase II sont également induits lors d'une infection. La raison pour laquelle ces types d'anticorps sont aussi produits en grosse quantité est encore inconnue. Cette variation antigénique est importante en sérologie et vient en support au diagnostic pour la différenciation entre fièvres Q aiguë et chronique chez l'humain (Million et al. 2009; Kampschreur et al. 2015).

Dans la phase I, la bactérie synthétise un LPS qui contient, dans sa chaîne O-spécifique des sucres caractéristiques (D-mannose) de cette structure bactérienne mais également des sucres spécifiques : le virenose (Vir, 6-deoxy-3-C-méthyl-D-gulose) et le dihydroxystreptose (Strep, 3-C-(hydroxyméthyl)-L-lyxose) (fig. 1). D'après l'analyse des liens glycosidiques, il est prédit que les Vir, Strep et D-mannose (Man) soient localisés en position terminale de la chaîne O-spécifique du LPS I (Narasaki et Toman

**Fig. 1.** Représentation schématique de l'arrangement structural des résidus de sucres dans le lipopolysaccharide (LPS) en phase I (adapté de [Narasaki et Toman 2012](#)). GalNAc, N-acétyl-D-galactosamine; GlcNAc, N-acétyl-D-glucosamine; Glc, D-glucose; Hep, D-glycéro-D-manno-heptose; Kdo, acide 2-kéto-3-déoxyoctulonique; Man, D-mannose; Strep, dihydroxystreptose (3-C-(hydroxyméthyl)-L-lyxose); et Vir, virénose (6-déoxy-3-C-méthyl-D-gulose). Les sucres en gras sont les plus fréquents dans la chaîne O-spécifique.



2012). Ces 2 sucres n'ont pas été retrouvés dans le LPS d'autres bactéries et sont considérés comme des biomarqueurs uniques de *C. burnetii* ([Palkovicova et al. 2009](#)).

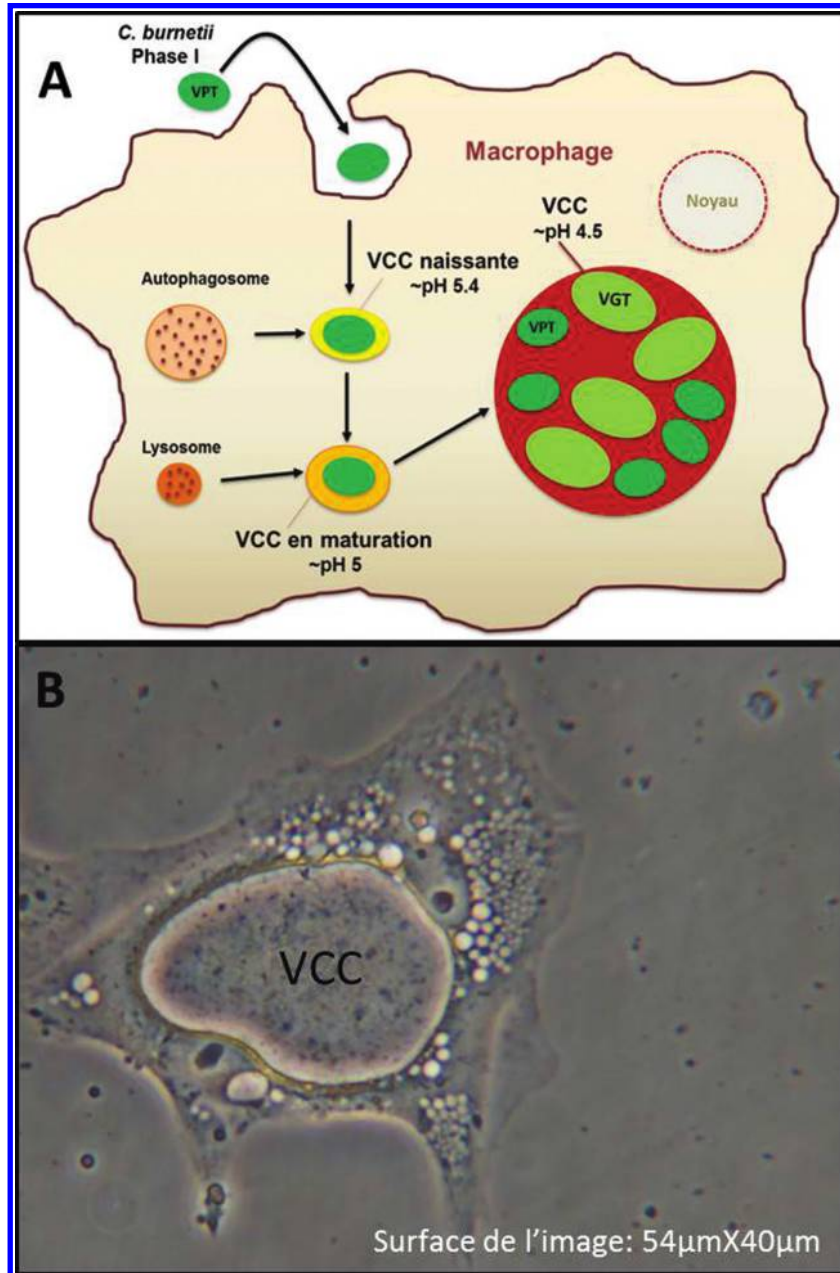
Dans la phase II, le LPS tronqué ne contient pas les sucres de chaîne O-spécifique. L'analyse du LPS II a démontré la présence de 3 résidus Kdo (acide 2-kéto-3-déoxyoctulonique) avec un arrangement structural similaire à celui présent dans le LPS de la plupart des entérobactéries ([Toman et Skultety 1994](#)). La transition de la phase I à la phase II est souvent associée à une large délétion chromosomique contenant des gènes prédits comme impliqués dans la biosynthèse du LPS ([Thompson et al. 2003](#)). En effet, la comparaison des génomes des souches Nine Mile phase I RSA493 (NMI) et Nine Mile phase II RSA493 (NMII) confirme que la seule différence majeure entre les 2 clones est la délétion de 20 ORF (cadres de lecture ouverts) associés à la production du LPS ([Beare et al. 2006](#)). Ceci indique que la perte de virulence est associée à un LPS plus court et non à un défaut de production d'autres facteurs de virulence. Il est intéressant de noter que le clone variant « crazy » RSA514 (NMC), qui produit un LPS de longueur intermédiaire, présente une délétion un peu plus grande que celle du clone NMII, dont le LPS est réduit, suggérant que d'autres mutations ponctuelles présentes dans d'autres régions pourraient être responsables de la réduction de la taille du LPS observée pour le clone NMII ([Beare et al. 2006](#)). De plus, l'isolat australien QD (Au) qui possède un LPS en phase II, ne présente pas les délétions habituelles, ce qui indique que la compréhension de la biosynthèse du LPS chez *C. burnetii* est encore incomplète ([Thompson et al. 2003](#); [Beare et al. 2006](#)).

#### Cycle intracellulaire et facteurs de virulence

Lors de l'infection ([fig. 2A](#)), *C. burnetii* se lie aux macrophages par les  $\alpha_v\beta_3$  intégrines, ce qui déclenche la

phagocytose de la bactérie par un mécanisme actine-dépendant ([Baca et al. 1993](#)). La bactérie va ensuite détourner la phagocytose à son profit. La vacuole contenant des *Coxiella* (VCC) naissante acquiert la GTPase RAB5 dès 5 min après internalisation. Cette GTPase stimule la fusion de la VCC avec les endosomes précoces, résultant en une acidification jusqu'à un pH  $\sim 5,4$  et l'acquisition de la protéine marqueur endosomal précoce, EEA1; ce qui est caractéristique d'un développement phagosomal normal. Néanmoins, contrairement aux phagosomes, la VCC acquiert aussi les marqueurs autophagosomaux LC3 (microtubule-associated protein light-chain 3). La maturation de la VCC lui fait perdre RAB5 et EEA1 et acquérir la GTPase RAB7 ainsi que la glycoprotéine membranaire associée au lysosome, LAMP1, 40 à 60 min après l'internalisation. Il en résulte une acidification jusqu'à un pH de 5. Ces phénomènes sont également caractéristiques d'un développement phagosomal normal. Deux heures après internalisation, les enzymes lysosomales, incluant la cathepsine D, commencent à s'accumuler dans la VCC et le pH baisse encore jusqu'à environ 4,5. Ce processus est significativement retardé par rapport à l'acquisition phagolysosomale normale de la cathepsine D. Le délai dans le développement de la VCC semblerait permettre la conversion des variants de petite taille en variants de grande taille. De 8 h à 2 jours après l'internalisation, la VCC s'élargit pour occuper un espace de plus en plus important dans le cytoplasme de la cellule hôte. Ce processus est dépendant de la synthèse de protéines par la bactérie et implique le recrutement de la GTPase RHO et RAB1B à la membrane de la VCC. La GTPase RHO est vraisemblablement impliquée dans la maintenance de cette large vacuole, alors que le recrutement de RAB1B en provenance du réticulum endoplasmique semble faciliter l'acquisition de

**Fig. 2.** (A) Représentation schématique du cycle intracellulaire de *Coxiella burnetii* et (B) photographie au microscope inversé en contraste de phase d'une cellule Vero infectée par *C. burnetii*. VCC, vacuole contenant des *Coxiella*; VGT, variant grande taille; VPT, variant petite taille.



membranes supplémentaires pour créer cette VCC spacieuse (van Schaik et al. 2013) (fig. 2A). Celle-ci est observée lors de la photographie de cellules Vero infectées en boîte de culture au microscope inversée en contraste de phase (fig. 2B, CODA-CERVA).

La culture de *C. burnetii* est délicate, elle ne pouvait se réaliser que sur lignée cellulaire, œufs embryonnés ou dans des souris jusqu'à ce qu'une culture axénique soit développée par Omsland et ses collaborateurs (Omsland et al. 2009; Omsland et Heinzen 2011). Le développement de ce milieu axénique a permis de mieux identifier les facteurs de virulence de *C. burnetii*. Initialement, le séquençage du génome de *C. burnetii* a révélé la présence

de gènes encodant les composants du système de sécrétion de type IV (T4SS) relié au système Dot/Icm (« defect in organelle trafficking/intracellular multiplication ») de *Legionella pneumophila* (Seshadri et al. 2003). Récemment, il fut démontré que le système Dot/Icm est indispensable pour la survie de *Coxiella* dans les cellules hôtes (Beare et al. 2011; Carey et al. 2011) et particulièrement en la protégeant de l'apoptose (Beare et al. 2011). En effet, un des candidats effecteurs, AnkG a une action anti-apoptotique probablement en se liant à la protéine mitochondriale pro-apoptotique p32 de l'hôte (Luhmann et al. 2010). Toutefois, on ignore si AnkG est, seul, suffisant pour inhiber l'apoptose ou si des protéines effectri-

ces supplémentaires sont nécessaires (Broederdorf et Voth 2011). Récemment, 2 autres protéines anti-apoptotiques ont été identifiées. Il s'agit des protéines effectrices T4SS CaeA et CaeB (*C. burnetii* « anti-apoptotic effector ») qui inhibent l'apoptose de la cellule hôte et donc la survie de *C. burnetii*. CaeB bloque l'apoptose très efficacement, alors que l'activité anti-apoptotique de CaeA est plus faible (Klingenbeck et al. 2013). Du côté de l'hôte, un large criblage génomique a été réalisé et a permis de confirmer les déterminants requis pour la croissance intracellulaire de *C. burnetii*, notamment les GTPases (McDonough et al. 2013). En plus des facteurs de virulence, il semble exister des facteurs de non-virulence. En effet, en Guyane française, l'analyse génomique comparative de la souche virulente Cb175 par rapport à la souche Nine Mile a montré une délétion d'un fragment de 6105 pb. Celui-ci correspond à la région de l'opéron hlyCABD du système de sécrétion type I (T1SS). La virulence de cette souche pourrait donc être liée à une réduction génomique (D'Amato et al. 2015).

### Génomique

Ces dernières années ont vu se développer les séquençages des génomes de différentes souches de *Coxiella* et les méthodes de typage moléculaire de la bactérie.

### Séquençage de génomes

En 2003, la première séquence génomique complète a été obtenue pour la souche de référence, Nine Mile RSA 493. Cette souche a été isolée de tiques dans le Montana en 1935 et son génome est composé de 1 995 275 paires de bases (Seshadri et al. 2003). En 2007, le génome de la souche Henzerling RSA 331, isolée du sang d'un patient infecté dans le nord de l'Italie en 1945, a été séquencé par le centre « J. Craig Venter Institute » (CVI 2007).

Ensuite, 3 autres souches ont été séquencées, il s'agit des isolats « K » et « G » d'endocardites humaines chroniques et de l'isolat « Dugway » de rongeurs, naturellement atténué (Beare et al. 2009). Le séquençage de l'ARN 16S de 6 isolats provenant de différentes zones géographiques a indiqué que ces souches sont très proches (99 %), ce qui révèle une certaine homogénéité phylogénétique de l'espèce *C. burnetii* (Stein et al. 1993).

Le nombre élevé de pseudogènes prédits (83 dans le génome de la souche Nine Mile) suggère une phase de réduction dans l'évolution du génome de *C. burnetii*, ce qui est une caractéristique des bactéries intracellulaires. Par contre, contrairement aux autres bactéries intracellulaires, le génome de *C. burnetii* contient de nombreux éléments de séquences d'insertion (IS) (32 dans le génome de la souche Nine Mile), indiquant une certaine plasticité du génome. Le mode de vie intracellulaire de *Coxiella* semble résulter d'une adaptation relativement récente (Seshadri et al. 2003). La comparaison de génomes a ainsi révélé un grand nombre de polymorphismes d'un seul nucléotide (SNP) évolutifs stables

(11 386) qui peuvent être utilisés pour consolider son arbre phylogénétique (Pearson et al. 2013).

Fin 2013, 13 génomes de *C. burnetii* étaient disponibles. Parmi ceux-ci on compte le génome du clone Z3055 lié à l'épidémie des Pays-Bas qui a ensuite été complètement séquencé (D'Amato et al. 2014c). Karlsson et collaborateurs ont séquencé 8 génomes supplémentaires (Karlsson et al. 2014) dont la souche Namibia, isolée en 1991 d'un avortement caprin en Namibie, qui a également été complètement séquencée (Walter et al. 2014a). Plus récemment, 6 isolats de ruminants d'origine européenne (Sidi-Boumedine et al. 2014), la souche australienne AuQ01 (Arandale) (Walter et al. 2014b), la souche Dog Utad isolée de chien (D'Amato et al. 2014a), la souche Cb196 isolée d'endocardite en Arabie Saoudite (D'Amato et al. 2014b), un isolat humain NL-Limburg provenant de l'épidémie des Pays-Bas (Hammerl et al. 2015) et la souche Cb175 isolée en Guyane française (D'Amato et al. 2015) ont également été séquencés. Ainsi, le nombre total de génomes de *C. burnetii* séquencés s'élève à 32, dont seulement 8 sont complètement séquencés.

### Plasmides

Dans certains isolats, un plasmide de 33 à 42 kb (en fonction du plasmide considéré) peut être observé, mais sa fonction est peu connue (Maurin et Raoult 1999). Quatre types de plasmides ont été décrits : QpH1, QpRS, QpDG et QpDV, ainsi qu'un plasmide sans dénomination dans un isolat de *C. burnetii* de Chine (Thiele et al. 1994; Willems et al. 1997; Lautenschlager et al. 2000; Jager et al. 2002). Les souches Scurry ne possédant pas de plasmide ont une séquence conservée de 16 kb, semblable au plasmide, intégrée dans leur chromosome. La présence de cette séquence conservée dans toutes les souches analysées suggère que cette séquence plasmidique est une partie essentielle du génome (Mallavia 1991).

Initialement, les souches de *C. burnetii* ayant un type de plasmide spécifique étaient associées au développement de la forme aiguë (QpH1) ou de la forme chronique de la fièvre Q (QpRS) chez l'humain (Samuel et al. 1985). Cependant, une étude ultérieure révéla la présence des plasmides QpH1 ou QpRS dans des isolats de fièvre Q chronique, ce qui démontre que le type de plasmide n'est pas un prédicteur fiable de la présentation de la maladie (Thiele et Willems 1994). Les résultats d'une étude de Voth et collaborateurs suggèrent que la séquence plasmidique conservée de *C. burnetii* code pour les substrats du système de sécrétion T4SS qui jouent un rôle important dans la subversion des fonctions des cellules hôtes infectées. Ce qui fournit une explication plausible à la maintenance absolue des gènes plasmidiques chez ce pathogène (Voth et al. 2011). Les effecteurs du T4SS sont encodés par les plasmides QpH1, QpRS et QpDG qui ont été respectivement isolés de fièvres Q aiguës, de fièvres Q chroniques et d'isolats sévèrement atténués (Maturana et al. 2013).

**Tableau 1.** Aperçu des principales techniques de génotypage publiées.

Méthodes de génotypage	Principe	Index HGDI	Nombre d'isolats testés	Nombre de groupes	Référence(s)
Séquençage du gène <i>com1</i>	Analyse des différences dans la séquence du gène encodant Com1	ND	21	4	Zhang et al. 1997
Séquençage du gène <i>rpoB</i>	Analyse des différences dans la séquence encodant RpoB	ND	ND	ND	Mollet et al. 1998
Séquençage des gènes <i>com1</i> et <i>mucZ</i>	Analyse des différences dans la séquence Com1 et MucZ	ND	27	<i>com1</i> : 5; <i>mucZ</i> : 4	Sekeyova et al. 1999
Séquençage du gène <i>icd</i>	Analyse des différences dans la séquence encodant l'Icd	ND	19	3	Nguyen et Hirai 1999
RAPD	Comparaison de la taille des produits d'amplification d'ADN polymorphe	0,9	ND	ND	Rustscheff et al. 2000
MST	Variation de séquences dans de courtes régions intergéniques du génome	0,93	173	30	Glazunova et al. 2005
MLVA	Détermination par PCR du nombre de répétitions en tandem de motifs séquentiels d'ADN répétés	0,99	42	36	Svraka et al. 2006; Arricau-Bouvery et al. 2006
Micro-array ADN	Comparaison de génomes complets	0,71	24	7	Beare et al. 2006
Typage par différenciation PCR de la transposase codé sur l'IS1111	Amplification et séquençage de la transposase de la transposase de l'IS1111	0,73	14	5	Denison et al. 2007
SNP*	Variation d'un seul nucléotide à une position précise du génome	0,74	28	9	Huijsmans et al. 2011

**Nota :** HGDI, index de diversité de Hunter et Gaston (Hunter and Gaston 1988); ND, non disponible; RAPD, amplification aléatoire d'ADN polymorphe; MST, séquençage de multiples régions intergéniques; MLVA, analyses de plusieurs loci VNTR, répétition en tandem polymorphe; micro-array ADN, génotypage par puce à ADN; PCR, réaction en chaîne de la polymérase; SNP, polymorphisme d'un seul nucléotide.

\*Cette méthode a été développée dans les conditions locales de l'épidémie aux Pays-Bas.

#### Typage moléculaire

Les méthodes de génotypage sont importantes pour distinguer les isolats de *C. burnetii*. La différenciation entre souches et l'utilisation de marqueurs épidémiologiques sont la base de l'épidémiologie moléculaire permettant l'identification des sources des épidémies de fièvre Q (Arricau-Bouvery et al. 2006). Cependant, les travaux moléculaires sur *C. burnetii* ont été ralentis dans le passé par sa culture fastidieuse. Actuellement, aucune méthode n'est reconnue au niveau international comme méthode de référence (Sidi-Boumedine et Rousset 2011). Cependant, les analyses de plusieurs loci VNTR, répétition en tandem polymorphe (MLVA) et le séquençage de multiples régions intergéniques (MST) sont considérées comme les méthodes les plus discriminantes. De plus, des bases de données ont été établies : <http://mlva.u-psud.fr/MLVAnet/> pour le MLVA et <http://ifr48.timone.univ-mrs.fr> pour le MST (OIE 2015).

Un index numérique permettant d'apprécier le pouvoir discriminant d'un système de typage donné a été proposé (Hunter et Gaston 1988). Cet index de diversité de Hunter-Gaston (HGDI) est basé sur la probabilité que 2 souches non apparentées échantillonnées à partir d'une même population soient placées dans des groupes de typages différents. Ainsi, plus l'index est élevé plus le système de typage est efficace et un HGDI > 0,90 est souhaitable pour pouvoir interpréter les résultats de typage avec certitude (Hunter et Gaston 1988). Malgré son importance, ce pouvoir discriminant n'est cependant pas

systématiquement évalué. Un aperçu des principales techniques de génotypage publiées est présenté dans le tableau 1.

La méthode polymorphisme de longueur de fragments de restriction (RFLP) (HGDI = 0,86) basée sur l'analyse des différences de tailles des fragments après digestion complète de l'ADN génomique est généralement abandonnée (Jager et al. 1998). D'autres analyses phylogénétiques ou différentielles ont été réalisées par séquençage de gènes spécifiques incluant *rpoB* et *com1/mucZ* mais avec un faible pouvoir discriminant (Mollet et al. 1998; Nguyen et Hirai 1999; Sekeyova et al. 1999). Par contre en utilisant la séquence du gène *com1* seul, les isolats peuvent être séparés en groupes aigu et chronique (Zhang et al. 1997). Le séquençage des gènes *icd* de 19 isolats de *C. burnetii* révèle une séparation en 3 groupes qui correspondent au groupement génotypique décrit avec la RFLP (Nguyen et Hirai 1999).

Toutes ces méthodes de typage (RFLP, électrophorèse sur gel en champ pulsé et séquençage de gènes spécifiques) comportent des problèmes de reproductibilité inter- et intra-laboratoire et le développement d'autres méthodes, plus rapides et fiables, reste donc un objectif important.

La méthode « RAPD » (HGDI = 0,9), basée sur l'amplification aléatoire d'ADN polymorphe et l'analyse par électrophorèse des fragments amplifiés, a été utilisée avec succès bien que très peu de souches de *C. burnetii* aient été testées (tableau 1).

Grâce à la disponibilité des génomes complètement séquencés, le MST et le MLVA ont augmenté le pouvoir discriminant par rapport aux techniques précédentes.

Le « MST », basé sur le séquençage de multiples régions intergéniques (HGDI = 0,93), identifie 10 espaces intergéniques de nature variable, qui ont ainsi été séquencés pour séparer 173 isolats en 30 types de séquences différents (Glazunova et al. 2005) (tableau 1).

La méthode « MLVA » est basée sur la présence de séquences d'ADN répétées retrouvées dans le génome de toutes les espèces de bactéries. La combinaison de 17 marqueurs permet d'obtenir un HGDI de 0,99 (Arricau-Bouvery et al. 2006; Svraka et al. 2006; Roest et al. 2011;) (tableau 1). La méthode de typage MLVA (HGDI > 0,90) est un outil utile de typage pour *C. burnetii* car elle est plus discriminante que le typage MST (Svraka et al. 2006; Chmielewski et al. 2009; Roest et al. 2013a).

Le génotypage par puces à ADN (« micro-array ADN », HGDI = 0,71) est basé sur l'hybridation du génome à une puce à ADN contenant tous les ORF de la souche Nine Mile I de référence. Ainsi, 24 isolats ont pu être classifiés en 7 groupes distincts (Beare et al. 2006).

Le typage par différenciation au moyen de réaction en chaîne de la polymérase (PCR) de la transposase codé sur l'IS1111 (HGDI = 0,73) de 14 isolats de *C. burnetii* a permis la séparation des souches dans les groupes I à V, confirmant les groupements originaux (Denison et al. 2007) (tableau 1).

Aux Pays-Bas, un nouveau test de génotypage des SNP (HGDI = 0,74) par PCR en temps réel a été développé suite à l'épidémie (Huijsmans et al. 2011). Un groupe de 10 SNP, 7 situés dans des gènes monocopies et 3 dans des séquences d'insertion, a permis la répartition de 28 souches de *C. burnetii* en 9 génotypes SNP. Bien que le pouvoir discriminant soit moyen (HGDI = 0,74), cette méthode a été utile pour établir un lien épidémiologique de l'animal à l'humain lors de l'épidémie néerlandaise de fièvre Q. Elle a également permis de différencier la souche vaccinale (Nine Mile) de la souche de terrain (CbNL01) dans le lait après vaccination (Hermans et al. 2011). Les avantages du SNP par rapport au MLVA sont qu'il ne requiert pas d'équipement de séquençage coûteux, qu'il est rapide et qu'il peut être directement appliqué à des échantillons de terrain.

## La maladie

### La maladie chez l'humain

#### Les réservoirs

L'humain se contamine essentiellement par voie aérienne, par inhalation d'aérosols au contact de mammifères nouveau-nés, de placentas ou de laines contaminées. *Coxiella burnetii* peut infecter de nombreux hôtes mammifères domestiques (bovins, ovins, caprins, chevaux, chameaux, chiens, chats, lapins) et sauvages (cervidés, ours, renards, marsupiaux, rongeurs), les mammifères marins, mais également les oiseaux

ainsi que les arthropodes, en particulier les tiques (Cutler et al. 2007). Les élevages de ruminants domestiques sont le plus souvent à l'origine des contaminations humaines, et plus particulièrement les petits ruminants (Bru et al. 2013). Ces dernières années en Europe, 90 % des cas de fièvre Q répertoriés ont eu comme source de contamination les produits de brebis et chèvres (tableau 2) (EFSA Panel on Animal Health and Welfare 2010). Le personnel des fermes, des abattoirs, de laboratoires, d'industries laitières ainsi que les vétérinaires sont particulièrement exposés (Levy et Raoult 2000). *Coxiella burnetii* est excrétée dans le placenta, les arrièr-faix, les fèces et le mucus vaginal aussi bien lors d'avortements que lors de mises bas normales. La bactérie est également excrétée dans le lait (Guatteo et al. 2006; Roest 2013).

D'autres réservoirs ont également été proposés. *Coxiella burnetii* a été isolée dans environ 40 espèces de tiques, et la possible transmission à des humains a été rapportée (Anderson et al. 2013). Les tiques peuvent répandre, par leurs fèces, de grandes quantités de *C. burnetii* qui peuvent contaminer la peau des animaux et (ou) à leur tour être inhalées par les humains ou les animaux (Babudieri 1959). La présence de *C. burnetii* a été détectée dans les glandes salivaires de 3 espèces de tiques (*Ixodes ovatus*, *Ixodes persulcatus* et *Haemophysalis flava*) au Japon (Qiu et al. 2014). En Europe, par contre, sa détection est beaucoup plus rare (Michelet et al. 2014). Aux Pays-Bas, la prévalence de *C. burnetii* dans les tiques *Ixodes ricinus* était <0,2 %, ce qui représente un risque de contamination très faible (Sprong et al. 2012). Dans le sud de la France, *C. burnetii* a été détectée dans des tiques prélevées sur des oiseaux passereaux, des chiens, des chevaux, des chats et des humains, mais leur rôle dans la transmission n'a pas été investigué (Socolovschi et al. 2012). Le rôle des rats comme réservoir a également été investigué aux Pays-Bas. L'ADN de *C. burnetii* a été détecté dans la rate de 4,9 % des rats bruns (*Rattus norvegicus*) et 3 % des rats noirs (*Rattus rattus*). Ce qui ne représente pas un risque fréquent de transmission, mais un maintien de l'agent pathogène dans les fermes (Reusken et al. 2011). Les chiens et les chats peuvent aussi être infectés par *C. burnetii* et être associés avec des infections humaines dans les régions rurales et urbaines (Porter et al. 2011). Ainsi, au Japon, les chats sont considérés comme l'un des plus importants réservoirs de *C. burnetii* (Komiya et al. 2003). Il faudrait des investigations plus poussées pour vérifier la transmission inter-espèce et exclure la circulation indépendante de différentes souches spécifiques d'espèce comme cela a déjà été démontré chez les ruminants domestiques (Roest et al. 2013b).

Des anticorps contre *C. burnetii* ont été détectés chez les chevaux. Une séroprévalence moyenne de 15,8 % a été calculée à partir des études publiées dans la littérature, ce qui est comparable aux séroprévalences rapportées dans d'autres espèces, notamment les ruminants. Il faud-

**Tableau 2.** Historique des principales épidémies humaines de fièvre Q dans les pays européens (adapté d'EFSA 2010).

Année		Pays	Source la plus probable	Nombre de cas	Test(s) de diagnostic	Référence(s)
Début	Fin					
1987	1988	Italie	Moutons	235	TFC et IFA	Boschini et al. 1999
1990	1995	France	Moutons	289	IFA	Arricau-Bouvery et Rodolakis 2005
1992		Allemagne	Moutons	80	TFC	Schneider et al. 1993; Molle et al. 1995
1993		Bulgarie	Chèvres	>1000	TFC	Serbezov et al. 1999
1993	juin–nov.	Italie	Moutons	58	TFC et IFA	Manfredi Selvaggi et al. 1996
1994		Allemagne	Moutons	>18	TFC	Schulze et al. 1996
1996		France	Moutons	29	IFA	Arricau-Bouvery et Rodolakis 2005
1996		Allemagne	Moutons	56	ELISA	Lyytikainen et al. 1998
1997		Bosnie	Moutons	26	Sérologie	Arricau-Bouvery et Rodolakis 2005
1999		Allemagne	Fumier de moutons	82	ND	Arricau-Bouvery et Rodolakis 2005
2000		France	Fumier de chèvres	10	ND	Arricau-Bouvery et Rodolakis 2005
2000		France	Fumier de moutons	5	IFA	Arricau-Bouvery et Rodolakis 2005
2002		France	Moutons	88	IFA	Arricau-Bouvery et Rodolakis 2005
2002	juill.–sept.	Royaume-Uni	Paille	95	TFC	van Woerden et al. 2004
2003		Allemagne	Moutons	299	ELISA	Porten et al. 2006
2003	janv.–févr.	Italie	Moutons et chèvres	133	IFA	Santoro et al. 2004; Starnini et al. 2005
2003	janv.–févr.	Espagne	ND	60	IFA	Garcia-Clemente et al. 2007
2004		Bulgarie	Moutons et chèvres	220	IFA, TFC	Panaiotov et al. 2009
2004		Croatie	Moutons	14	TFC	Medic et al. 2005
2004		Espagne	Moutons et chèvres	22	IFA	de los Rios-Martin et al. 2006
2005		Allemagne	Moutons	331	ELISA	Giltsdorf et al. 2008
2005	2011	Pologne	Bovins	279	IFA	Chmielewski et Tylewska-Wierzbanska 2013
2006		Royaume-Uni	Moutons	110	IFA	Wilson et al. 2009
2007	2011	Pays-Bas	Chèvres	4108	IFA	van Loenhout et al. 2012
2007	avril	Slovénie	Moutons	35	IFA	Grilc et al. 2007
2007	avril	France	Moutons	18	ND	EFSA 2010
2008	janv.–mars	Allemagne	Moutons	>46	ND	EFSA 2010
2008		Allemagne	Moutons	>56	ND	EFSA 2010
2009		Allemagne	Moutons	5	ND	Henning et al. 2009
2012		Suisse	Moutons	14	IFA et rt-PCR	Bellini et al. 2014
2013	avr.–juill.	Hongrie	Moutons	70	IFA et rt-PCR	Gyuranecz et al. 2014
2014	mai–juin	France	Moutons	45	IFA et rt-PCR	Agences Régionale de Santé 2014

**Nota :** TFC, test de fixation du complément; IFA, test d'immunofluorescence indirecte; ND, non déterminé; rt-PCR, « real-time PCR ».

rait donc également tenir compte du rôle possible du cheval comme réservoir pour d'autres espèces animales, y compris l'humain (Marenzoni et al. 2013). Aux Pays-Bas, la présence de la bactérie chez certains chiens et chevaux indique que ces derniers devraient être considérés comme réservoirs de *C. burnetii* (Roest et al. 2013b). La susceptibilité naturelle des porcs a été démontrée par la présence d'anticorps contre *C. burnetii* dans leurs sérums (Marmion et Stoker 1958). Cependant, le rôle joué par les porcs dans l'épidémiologie de la fièvre Q reste inconnu (Hirai et To 1998). L'infection de chevreuils sauvages par *C. burnetii* a également été démontrée aux Pays-Bas (Rijks et al. 2011). La détection de l'ADN de *C. burnetii* dans la faune sauvage a également été investiguée dans différents pays. Au Japon, la présence de *C. burnetii* a été observée chez les sangliers (Ejercito et al. 1993). Au Pays basque, l'ADN de *C. burnetii* a été détecté chez des chevreuils, des sangliers, des lièvres, des vautours et d'autres oiseaux sauvages (Astobiza et al. 2011). Au Royaume-Uni, une étude a démontré que les espèces sauvages peuvent représenter

des réservoirs importants pour le bétail et pour les humains (Meredith et al. 2015). Les hautes séroprévalences et l'évidence d'infection systémique chez le lapin européen (*Oryctolagus cuniculus*) supportent son rôle de réservoir pour *C. burnetii* (Gonzalez-Barrio et al. 2015b). Cependant, des études épidémiologiques de typage moléculaire seraient nécessaires pour vérifier cette hypothèse.

La circulation de l'agent pathogène parmi les espèces sauvages assure le maintien de *C. burnetii* dans la nature, alors que la transmission parmi les animaux domestiques serait à l'origine de la plupart des contaminations humaines et les tiques seraient des vecteurs communs à chacun des cycles (Rousset et al. 2003).

#### Mode de contamination

La contamination se fait principalement par voie aérienne et le potentiel infectieux de *C. burnetii* est très élevé. Une dose infectieuse de 1 à 10 bactéries a été estimée à l'aide de modèles animaux après observation de la réponse sérologique et (ou) de la fièvre, et (ou) de lésions au



niveau des organes (La Scola et al. 1997). Ces valeurs ont été observées lors d'infections par voie d'inoculation intra-péritonéale, ce qui ne correspond pas aux conditions naturelles. Des modèles d'infection par aérosol pour comparer la virulence des souches ont également été mis au point chez les souris (Stein et al. 2005) et les cobayes (Russell-Lodrigue et al. 2006). Des expériences utilisant des doses infectantes chez l'humain par voie aérienne ont été menées par l'armée américaine. Cependant, ces doses n'étaient pas exprimées en nombres de bactéries, mais en dilutions successives au départ d'une suspension de *C. burnetii* cultivée en œufs embryonnés (Tigertt et al. 1961). Une étude plus récente chez l'humain rapporte la dose de 1,18 bactéries pour 50 % d'infection par voie aérienne (Brooke et al. 2013).

La propagation aérienne peut avoir lieu sur de longues distances. À Briançon en France, une étude a rapporté le rôle des hélicoptères dans la diffusion des aérosols à proximité d'un abattoir (Carrieri et al. 2002). Différentes enquêtes épidémiologiques estiment la distance de diffusion lors d'épidémies humaines : 400 m en Allemagne (Gilsdorf et al. 2008), 5 km aux Pays-Bas (Schimmer et al. 2010; Hackert et al. 2012), 18 km au Royaume-Uni (Hawker et al. 1998) et 40 km en France (Tissot-Dupont et al. 2004). En France, ce sont le « Mistral » et la géographie des lieux qui ont été propices à une diffusion sur une longue distance. Les bactéries peuvent aussi être transportées par l'intermédiaire d'autres voies que l'air comme l'épandage de fumier par exemple (Berri et al. 2003; Hermans et al. 2014). D'autres facteurs, tels que la végétation et l'humidité du sol, semblent également jouer un rôle important pour la dispersion de la bactérie (van der Hoek et al. 2011a). Aux Pays-Bas, une étude a démontré que le risque d'infection était 30 fois plus important dans un rayon de 2 km autour de la source d'infection, par rapport à un rayon de 5 km, au cours d'une épidémie, dans une région géographique sans obstacle naturel et dans des conditions de faibles précipitations et de vent important (Schimmer et al. 2010).

Il n'existe pas de preuves formelles d'une transmission alimentaire. La consommation de lait cru infecté par *C. burnetii*, bien qu'elle provoque des séroconversions, n'a jamais été clairement associée à une maladie clinique chez l'humain (Benson et al. 1963; Krumbiegel et Wisniewski 1970; Angelakis et Raoult 2010). Une publication récente suggère une transmission par les produits laitiers, mais l'investigation décrite ne permet pas d'exclure avec certitude une transmission aérienne (Signs et al. 2012). L'analyse de produits laitiers en France a démontré la présence de l'ADN de *C. burnetii* mais pas de bactéries viables (Eldin et al. 2013). Les données actuellement disponibles suggèrent donc que les risques de contamination par la consommation de lait cru ou de produits à base de lait cru (y compris le fromage) ne sont pas négligeables, mais ils sont plus faibles par rapport à la transmission par inhalation d'aérosols de produits de mise bas (Gale et al. 2015). D'autres sources alimentaires devraient être consi-

dérées. Ainsi, au Japon, *C. burnetii* a été mise en évidence dans des œufs du commerce et de la mayonnaise. Les bactéries se sont avérées infectieuses après inoculation à la souris (Tatsumi et al. 2006). Cependant, il est actuellement considéré par l'Organisation mondiale de la santé animale qu'il n'y a pas de preuve significative démontrant la transmission par ingestion (OIE 2015).

Plusieurs autres modes de contamination humaine très minoritaires ont été évoqués : transmission inter-humaine par transfusion sanguine, par inhalation d'aérosols au cours d'accouchements de femmes infectées, par voie transplacentaire responsable d'infections congénitales, par voie sexuelle ou par piqûre de tiques (Levy et Raoult 2000). Récemment, un cas de contamination suite à l'injection de cellules ovines (fœtus et placenta) dans le cadre d'une thérapie cellulaire a été rapporté (Promed 2014).

### Pathogénie

La fièvre Q était une maladie négligée jusqu'il y a peu. Elle est définie comme une zoonose ubiquitaire. Aux États-Unis et dans la plupart des pays européens, la fièvre Q est une maladie à déclaration obligatoire. Néanmoins, cette maladie est sans doute souvent sous-déclarée en raison de ses symptômes communs et de sa résolution spontanée dans la plupart des cas. On estime qu'après une incubation de 10 à 17 jours, 40 % des personnes infectées développeront une fièvre Q aiguë et parmi les personnes infectées 1 à 5 % évolueront vers une forme chronique de la maladie (Million et al. 2009). Après infection, 60 % des personnes resteront asymptomatiques. On observera uniquement une séroconversion. Dans les autres cas symptomatiques, on décrit un syndrome pseudogrippal spontanément résolutif ou une hépatite ou une pneumopathie ou une méningo-encéphalite et 5 % des patients symptomatiques sont hospitalisés. Un traitement sera proposé lorsque le diagnostic est réalisé au moment de la phase aiguë symptomatique. Dans ces conditions, il est recommandé de traiter la fièvre Q aiguë de l'adulte par de la doxycycline 200 mg/jour pendant 2 à 3 semaines (Raoult et al. 2000; Anderson et al. 2013).

La fièvre Q deviendra chronique principalement chez les patients à risque, et ce, même plusieurs années après la primo-infection dans 1 à 5 % des cas. La définition de la fièvre Q chronique a récemment été remise en cause. En effet, en se basant uniquement sur la présence élevée d'anticorps, beaucoup de cas ont été considérés comme chroniques alors qu'il n'y avait aucune évidence clinique d'infection (Million et Raoult 2015).

Les formes chroniques les plus sévères sont l'endocardite, l'infection d'anévrisme, l'infection de prothèse vasculaire et des complications obstétricales sont possibles chez les femmes enceintes (Carcopino et al. 2009). Aux Pays-Bas, une étude chez les femmes enceintes présentant des anticorps dirigés contre *C. burnetii* en début de grossesse n'a pas montré de complications obstétricales chez celles-ci (van der Hoek et al. 2011b). Une autre étude

au Danemark suggère qu'il n'y aurait pas d'augmentation des risques de complications obstétricales chez les femmes ayant été exposées à *C. burnetii* (Nielsen et al. 2014). Dernièrement, Million et collaborateurs ont revu les données présentes dans la littérature et déduit des augmentations de mort-nés et malformations après une infection par la fièvre Q durant la grossesse (Million et al. 2014). L'effet de l'exposition à *C. burnetii* durant la grossesse sur les risques de complications obstétricales reste donc un sujet à clarifier.

Lors de l'épidémie aux Pays-Bas, la chirurgie valvulaire, les prothèses vasculaires, l'anévrisme, l'insuffisance rénale et un âge plus avancé ont été identifiés comme facteurs de risque pour le développement de la forme chronique de la maladie (Kampschreur et al. 2012). Chez 15 % des patients, on observera également un syndrome de fatigue chronique (Strauss et al. 2012). En absence de traitement approprié des formes chroniques, la mortalité est supérieure à 60 %. La nature intracellulaire de la bactérie rend le traitement antibiotique difficile. Une antibiothérapie à long terme (jusqu'à 2 ans) basée sur l'hydroxychloroquine et la doxycycline est recommandée. Notons néanmoins que des souches résistantes à la doxycycline ont été mises en évidence (Rolain et al. 2005; Rouli et al. 2012). Dans certains cas d'endocardite, la chirurgie cardiaque sera nécessaire (Raoult et al. 1999).

#### La maladie chez l'animal

L'infection est généralement enzootique et présente chez les ovins, caprins et bovins (Arricau-Bouvery et Rodolakis 2005). L'infection est très majoritairement inapparente chez les ruminants. Lors d'expression clinique, elle se manifeste principalement par des troubles de la reproduction : avortement, métrite, nouveau-né chétif et infertilité. Les caprins constituent l'espèce la plus sensible à la fièvre Q abortive. En effet, jusqu'à 90 % du troupeau peut être touché. Les vagues d'avortements ont été rapportées chez les caprins et les ovins mais pas chez les bovins. En effet, les bovins présentent des symptômes moins clairs et, jusqu'à présent, les vagues d'avortements ne sont pas bien documentées chez cette espèce. Des variations entre les souches de *Coxiella*, les techniques d'élevage et le caractère saisonnier des mises bas chez les petits ruminants pourraient être la cause de cette différence (Agerholm 2013; Saegerman et al. 2013).

À la suite de la mise bas, outre la charge bactérienne du placenta qui est souvent très élevée (Rousset et al. 2007), des bactéries seront excrétées dans le lait, les matières fécales, les sécrétions vaginales et dans les urines. La durée de cette excrétion est variable selon les espèces. Des mesures ont été réalisées lors d'infections expérimentales. Dans le lait, elle peut être de 13 mois chez les bovins (Guatteo et al. 2006), de 52 jours chez les chèvres (Berri et al. 2005) et de 8 jours chez les brebis (Berri et al. 2002). Dans les sécrétions vaginales, des bactéries seront trouvées chez la brebis jusqu'à 71 et 14 jours chez la chèvre (Berri et al. 2002) après la mise bas. Les

chèvres peuvent être infectées et excréter *C. burnetii* durant 2 mises bas successives (Hatchette et al. 2003; Berri et al. 2007). Il est également important de noter que, dans certains cas, la maladie au sein de l'élevage peut passer inaperçue et se manifester par quelques avortements sporadiques. Une étude récente de Roest et ses collaborateurs a démontré que, chez la chèvre gestante, *C. burnetii* n'est pas excrétée avant la mise bas. L'excrétion de l'agent pathogène ne se produit que lors de l'avortement ou de la naissance d'un animal viable (Roest et al. 2012).

Un travail a rapporté l'isolement de bactéries viables à partir du sperme de taureaux séropositifs (Kruszewska et Tylewska-Wierzbanska 1997). Le risque de transmission de *C. burnetii* lors du transfert d'embryons *in vitro* chez les chèvres et les bovins a également été observé (Alsaleh et al. 2014). Plus récemment, une étude a ainsi démontré la présence de *C. burnetii* dans le sperme de moutons et le risque de transmission lors de fécondation *in vitro* est donc présent (Ruiz-Fons et al. 2014). Chez les cerfs d'élevage, des problèmes de reproduction dus à *C. burnetii* ont été observés et confirmés par la détection de *C. burnetii* dans des sécrétions vaginales de biches (Gonzalez-Barrío et al. 2015a). L'infection à *C. burnetii* peut être induite chez un grand nombre d'espèces animales de laboratoire : souris, rat, lapin, cobaye et singe. L'expression clinique chez ces animaux de laboratoire est très variable. Elle peut être complètement asymptomatique, entraîner de la fièvre et la formation d'un granulome, ou être mortelle (Maurin et Raoult 1999).

#### Diagnostic chez l'humain

Chez l'humain, le diagnostic repose majoritairement sur la sérologie. Le test de référence est l'IFA, immunofluorescence indirecte. Cependant, cette méthode ne permet de distinguer à elle seule si l'infection est aiguë ou chronique (Kampschreur et al. 2015). Une infection aiguë pourrait être diagnostiquée sur base sérologique si un taux important d'anticorps contre la phase II (titres en IgM > 50 et IgG > 200 anti-phase II) est détecté. La définition d'infection chronique a été récemment remise en question et des critères autres que sérologiques ont été proposés pour un diagnostic définitif de fièvre Q chronique (Million et Raoult 2015). Des anticorps principalement dirigés contre la phase I, un titre persistant contre ceux-ci et un cadre clinique probant seront indicatifs de la pathologie chronique. Les valeurs seuil sérologiques ont été déterminées en 1994 (Dupont et al. 1994) et, depuis lors, elles ont été sujettes à controverse (Million et al. 2009; Million et Raoult 2015). Les lignes directrices utilisées lors de l'épidémie aux Pays-Bas sont plus larges et ont permis de prendre en considération plus de cas (Kampschreur et al. 2015).

#### Diagnostic chez les ruminants

Chez les ruminants, le test de fixation du complément (TFC) est encore utilisé dans certains laboratoires, mais les tests les plus utilisés sont le test ELISA et la technique « real-time PCR » (rt-PCR). Plusieurs études démontrent

que, comparé au test ELISA, le TFC manque de sensibilité dans la détection des anticorps anti-*Coxiella* (Rousset et al. 2007; Horigan et al. 2011). Cependant, selon une étude récente, le TFC montrerait, chez les bovins uniquement, une meilleure corrélation avec le statut excréteur de l'animal que les résultats du test ELISA (Natale et al. 2012).

Les trousseaux ELISA commerciaux utilisent soit des antigènes issus de la souche « Nine Mile », isolée d'une tique (IDEXX-Q Fever Antibody Test kit®), soit d'une souche isolée de bovin (IDVet-ID Screen Q fever indirect multi-species ELISA®), soit d'une souche isolée d'un ovin européen (Progenus/LSI-LSIVET Ruminant Milk/Serum Q Fever®). La spécificité et la sensibilité de ces différents tests ELISA sont fonction de la souche de *C. burnetii* utilisée pour détecter les anticorps. Selon une étude comparative chez les ruminants domestiques, le test ELISA basé sur un antigène ovin démontrerait une performance comparable à un test basé sur l'antigène Nine Mile et meilleure qu'un test basé sur un antigène bovin (Horigan et al. 2011). Aux États-Unis, une étude récente ne montrait pas une meilleure sensibilité du test ELISA utilisant la souche ovine européenne (Emery et al. 2014).

Le test ELISA est donc la méthode de choix pour beaucoup de laboratoires puisqu'elle est automatisable et plus sensible que le TFC. Les tests ELISA spécifiques de phase sont réalisés en utilisant des plaques contenant des antigènes spécifiques de la phase I ou II de la souche Nine Mile. Cette sérologie spécifique de phase permet une estimation de l'excrétion potentielle de *C. burnetii* avant même la mise bas, ainsi que l'obtention de résultats valables pour la détermination de la phase de l'infection (Sting et al. 2013; Lucchese et al. 2015). L'utilisation de ce test ELISA spécifique n'est pas très répandue ce qui est probablement dû à un manque de validation de cette méthode.

Bien que les tests sérologiques mettent en évidence la présence d'anticorps, ils ne permettent pas de distinguer si l'animal est malade (infection active ou ancienne) ou vacciné. Pour réaliser le diagnostic de troupeau, le test ELISA et la technique rt-PCR sont utilisés sur le lait de grand mélange (Rodolakis 2009). Les séquences les plus communément utilisées pour la détection de l'ADN de *C. burnetii* sont des séquences plasmidiques (QpH1 ou QpRS) ou des gènes présents sur le chromosome comme les gènes codant l'isocitrate-déshydrogénase (*icd*), la protéine de membrane externe (*com1*), la superoxyde dismutase (*sod*) ou la transposase dans l'élément d'insertion IS1111 (Seshadri et al. 2003). C'est cette dernière qui est la plus utilisée, la séquence présente en grand nombre offre une forte sensibilité. Selon les souches, ce nombre de copies varie de 7 à 110 (Klee et al. 2006). Des rt-PCR multiplex combinant plusieurs de ces gènes sont également utilisées pour augmenter l'efficacité de la détection (de Bruin et al. 2011). La culture du germe étant extrêmement complexe, la rt-PCR est la seule méthode de diagnostic direct de la fièvre Q chez les chèvres après la mise

bas (Sting et al. 2013). Cependant, elle ne permet pas la distinction entre bactéries vivantes et mortes.

### Épidémiologie

La fièvre Q a été décrite partout à travers le monde (Maurin et Raoult 1999). L'absence de déclaration officielle dans certains pays, la prédominance des formes asymptomatiques, le polymorphisme clinique et la difficulté du diagnostic sont responsables, comme pour d'autres maladies, d'une sous-estimation de l'incidence réelle de la maladie et de l'infection chez l'humain (Porter et al. 2011). Les études séro-épidémiologiques sont très éparses et les valeurs déterminées sont à considérer de manière critique. En effet, il existe des réactions croisées et les seuils de positivité bas entraînent une faible spécificité (Sidi-Boumedine et al. 2010). De même, chez les ruminants, les méthodologies et la définition des seuils de positivité utilisés sont très différentes (Guatteo et al. 2011). Ces données ne sont donc que des valeurs indicatives.

### En Afrique

En Afrique, 51 études de séroprévalence et de la maladie chez les humains et les animaux ont été réalisées entre 1965 et 2012. Elles ont été conduites dans 15 pays, principalement dans les régions d'Afrique du Nord, d'Afrique occidentale et de l'Afrique centrale. Les études de séroprévalence ont le plus souvent révélé l'infection par *C. burnetii* chez  $\leq 13$  % des bovins et 11 à 33 % des petits ruminants, alors que la séroprévalence humaine était en général  $< 8$  %. Dans les études de populations humaines, la fièvre Q était responsable de 2 à 9 % des hospitalisations pour maladie fébrile et de 1 à 3 % des cas d'endocardites. Le contact avec les chameaux et une résidence en milieu rural étaient associés à une séropositivité plus élevée. *Coxiella burnetii* représente donc un risque sous-estimé pour la santé humaine et animale en Afrique (Vanderburg et al. 2014).

### Aux États-Unis

L'analyse du lait de grand mélange a été utilisée pour permettre une surveillance des élevages bovins aux États-Unis. Une prévalence de détection de l'ADN de *C. burnetii* de plus de 90 % a été rapportée pendant 3 années successives (Kim et al. 2005). Lors d'une étude récente de génotypage sur un faible nombre d'échantillons, la détection de l'ADN de *C. burnetii* a été rapportée dans 96 % des échantillons de laits bovins et caprins testés aux États-Unis (Pearson et al. 2014). Des études de séroprévalence ont montré une grande variation selon les espèces avec la séroprévalence individuelle la plus importante chez les chèvres (41,6 %), suivie par les moutons (16,5 %) et les bovins (3,4 %) (McQuiston et Childs 2002). Plus récemment, une séroprévalence individuelle plus faible de *C. burnetii* chez la chèvre Boer (race viandeuse) a été estimée à 1,2 % dans le Missouri aux États-Unis (Baker et Pithua 2014). Les données de prévalence sont rares et difficilement comparables à cause des différentes méthodes de détection d'ADN et d'anticorps. Il faudrait également les évaluer selon les techniques d'élevage utilisées (en prairie ou industriel).

Une étude de séroprévalence aux États-Unis a démontré que 3,1 % de la population adulte avait des anticorps contre *C. burnetii* (Anderson et al. 2009). Parmi les vétérinaires, la séroprévalence était de ~22 % (Whitney et al. 2009). En 2011, des cas de fièvre Q dans des fermes à Washington et dans le Montana étaient associés à des chèvres infectées (Kersh et al. 2013). Le nombre de cas rapportés aux États-Unis est très faible par rapport aux hautes séroprévalences observées. Ce nombre est probablement sous-estimé à cause de la combinaison de cas asymptomatiques, de symptômes non spécifiques et des méthodes diagnostiques sous-exploitées.

### En Europe

En Europe, des cas humains de fièvre Q furent rapportés pour la première fois chez des soldats dans la région des Balkans en 1940, ainsi qu'en Allemagne juste après la Seconde Guerre mondiale, et aux Pays-Bas en 1956 (Georgiev et al. 2013). De grandes épidémies ont été rapportées notamment dans le sud de la France, le Pays Basque, en Suisse, en Grande-Bretagne et en Allemagne. Les cas de fièvre Q se produisent plus fréquemment au printemps et au début de l'été (Tissot-Dupont et al. 1992). Une ancienne étude a montré que dans le sud de la France, 5 à 8 % des cas d'endocardite sont dus à *C. burnetii*; la prévalence de la fièvre Q aiguë était de 50 cas pour 100 000 habitants (Dupont et al. 1994). L'incidence annuelle en France est estimée par le Centre national de référence à 2,5/100 000 habitants pour la fièvre Q aiguë (Frankel et al. 2011). La plupart des cas rapportés en Europe depuis 1987 sont repris dans le [tableau 2](#) ainsi que la méthode diagnostique utilisée et la source la plus probable de l'infection. Les comparaisons entre les différentes épidémies sont difficiles parce que les investigations des épidémies dépendent des tests de laboratoires utilisés. L'épidémie aux Pays-Bas est le plus grand épisode de contamination par les petits ruminants domestiques ([tableau 2](#)).

Chez l'animal, la plupart des études de prévalence sont réalisées par analyse de la présence d'ADN de *C. burnetii* dans les laits de grand mélange bovins. En Europe, les études récentes montraient une prévalence troupeau de 38 à 70 % (Muskens et al. 2011; Astobiza et al. 2012a; Gyuranecz et al. 2012; Valergakis et al. 2012; Vicari et al. 2013). La séroprévalence intra-troupeau, après l'an 2000, parmi la population caprine européenne est estimée entre 7 et 88 % (Georgiev et al. 2013). Chez l'humain en Europe, certaines études ont démontré une prévalence plus élevée dans les groupes à risque (vétérinaires et fermiers) par rapport à la population générale (EFSA Panel on Animal Health and Welfare 2010). En Belgique, pays voisin des Pays-Bas, *C. burnetii* est présente à l'état endémique (Czaplicki et al. 2011; Naesens et al. 2012). La prévalence troupeau dans le cheptel caprin de décembre 2009 à mars 2013 variait entre 6,3 et 12,1 %. Malgré la circulation de la souche de type néerlandais (CbNL01), le

nombre de notifications de cas humains belges était très bas (Boarbi et al. 2014).

### L'épidémie aux Pays-Bas

Aux Pays-Bas, la fièvre Q fut diagnostiquée pour la première fois chez l'humain en 1956, et devint une maladie à déclaration obligatoire en 1978. Entre 1978 et 2006, le nombre moyen de déclarations par année était de 11 (5–16) (Schimmer et al. 2008). En 2007, un total de 168 cas humains de fièvre Q ont été rapportés. En 2008, il devint clair que l'épidémie de 2007 n'était pas un incident isolé puisque le nombre de déclarations continuait à augmenter. Cette épidémie est selon toute vraisemblance associée à l'augmentation importante de l'élevage caprin dans ce pays au cours des 25 dernières années (Karagiannis et al. 2009; Hackert et al. 2012). L'augmentation de l'industrie du lait de chèvre a commencé après l'introduction du système de quota dans l'industrie de lait de vache en 1984 faisant passer le cheptel de 5000 animaux en 1985 à 375 000 en 2009 (Delsing et al. 2010). Le nombre moyen de chèvres par ferme infectée était de 900 et en moyenne 20 % des femelles gestantes avortaient (van den Brom et al. 2012). Une analyse de 3264 cas humains déclarés de fièvre Q aiguë durant l'épidémie aux Pays-Bas fut réalisée. Les patients les plus affectés étaient les hommes, les fumeurs et les personnes âgées de 40 à 60 ans. Le symptôme clinique le plus commun était la pneumonie. Seulement, 3,2 % des patients travaillaient dans le secteur agricole et 0,5 % dans l'industrie de la viande incluant les abattoirs (Dijkstra et al. 2012). Le nombre total de cas humains de fièvre Q, aux Pays-Bas, entre 2007 et 2011, s'élève à 4108 (van Loenhout et al. 2012) et 24 personnes présentant des facteurs de risques sont décédées de cette infection. Des études estiment que 44 000 personnes sont infectées par *C. burnetii* (van der Hoek et al. 2012).

En 2008, une analyse des laits de grand mélange de fermes caprines laitières aux Pays-Bas a démontré une prévalence de 32,9 % de fermes positives par analyse PCR et 29,8 % étaient positives en test ELISA (van den Brom et al. 2012). En 2009–2010, avant la vaccination, la séroprévalence dans les fermes caprines laitières était de 43,1 % (Schimmer et al. 2011). Ces 2 études ont utilisé la même méthode d'analyse.

Des mesures de contrôle ont été mises en place à la suite du démarrage de l'épidémie. La vaccination des chèvres, avec le vaccin Coxevac® (CEVA, Santé Animale), vaccin inactivé en phase I, sur base volontaire, a commencé en 2008. La vaccination était réalisée exclusivement dans la région de l'épidémie humaine. En 2009, la vaccination de toutes les fermes caprines et ovines de plus de 50 animaux devint obligatoire. Les transferts (achat et vente) et la reproduction dans ces fermes positives ont été interdits. La mesure la plus radicale et sans doute la plus efficace a été l'abattage de toutes les chèvres et brebis gestantes dans les fermes positives de fin 2009 jusqu'à mai 2010 (Hogerwerf et al. 2011). Par contre, l'effet de la vaccination n'a pas pu être analysé à cause de cet

abattage massif. À la suite de ces mesures, les cas de fièvre Q ont diminué aux Pays-Bas. La vaccination de 1368 personnes à risque (maladies vasculaires) a également eu lieu de janvier à juin 2011 après recrutement des patients par leur médecin généraliste (Isken et al. 2013). Il reste cependant à surveiller la population humaine pour les cas de fièvre Q chronique (van der Hoek et al. 2012).

La séroprévalence humaine avant l'épidémie était de 2,4 % (Schimmer et al. 2012). Notons que les différences de séroprévalences doivent toujours être interprétées prudemment, car des études sérologiques différentes menées dans la même population peuvent aboutir à des différences significatives d'estimations (Blaauw et al. 2012). Cette faible prévalence dans la population avant le début de l'épidémie combinée à une excrétion massive de *C. burnetii* dans les fermes caprines laitières situées dans des zones densément peuplées ont plus que probablement contribué à l'émergence de l'épidémie de fièvre Q aux Pays-Bas entre 2007 et 2011. Durant l'épidémie, des taux de séroprévalence de 20 % ont été atteints dans au moins une des régions touchées aux Pays-Bas (Karagiannis et al. 2009).

Ainsi l'épidémie de fièvre Q aux Pays-Bas était exceptionnelle pour différentes raisons : sa longue durée (de 2007 à 2011), le nombre de personnes atteintes (plus de 4000 cas humains) et la source d'infection (principalement les chèvres laitières) (Roest et al. 2013a).

Cette épidémie humaine de grande ampleur a démontré la nécessité du développement et de l'harmonisation des méthodes de diagnostic et de lutte contre la fièvre Q, y compris les méthodes de typage de *C. burnetii* (EFSA Panel on Animal Health and Welfare 2010). Roest et ses collaborateurs (Roest et al. 2011) ont utilisé la méthode de génotypage MLVA sur un large nombre d'échantillons prélevés lors de l'épidémie. Ils ont identifié un génotype prédominant ayant une dispersion clonale et proposé l'hypothèse de transmission d'une souche hypervirulente. Contrairement à cette hypothèse, Huijsmans et ses collaborateurs (Huijsmans et al. 2011), en utilisant la méthode de génotypage SNP, ont identifié 5 génotypes distincts (3 chez les humains et 4 dans le bétail). Ils concluent que les facteurs environnementaux (densité animaux-humains et climat) propageant davantage l'épidémie serait une hypothèse plus valide que celle d'une souche particulièrement virulente (Huijsmans et al. 2011). Il a récemment été prouvé que l'épandage de fumier de chèvre aurait aussi été une source de contamination lors de l'épidémie aux Pays-Bas (Hermans et al. 2014). Cependant, une autre étude a ensuite démontré que le compostage réduit le nombre de *C. burnetii* vivantes dans le fumier (van den Brom et al. 2015).

### Vaccination

Le vaccin idéal contre *C. burnetii* serait basé sur des antigènes avec un bon pouvoir immunogène, mais qui ne provoquent pas d'effets secondaires tels que la réactivation de l'infection ou des réactions locales.

Chez l'humain et chez l'animal, 2 types de vaccins sont utilisés : les vaccins « whole cell » (WC) à base de cellules entières de *C. burnetii* soit en phase I soit en phase II, et les vaccins à base de parois bactériennes extraites avec du chloroforme méthanol (CMR, chloroforme méthanol résidu). Ceux-ci ont été développés pour l'humain plus récemment afin de limiter les réactions d'hypersensibilité retardée observées au point d'injection avec les vaccins WC chez des personnes préalablement sensibilisées.

### Chez l'humain

#### Vaccin vivant

Un vaccin vivant atténué, fabriqué à partir de la souche Grita M-44, censé être en phase II, a été testé en ex-URSS (Genig 1968). Il fut abandonné plus tard lorsque des études chez le cobaye ont montré que cette souche était capable de persister chez l'hôte et que l'infection pouvait se réactiver à cause des bactéries en phase I résiduelles (Johnson et al. 1977).

#### Vaccin corpusculaire

Les vaccins corpusculaires sont constitués de *C. burnetii* en phase I inactivées. Ils sont inefficaces en période d'incubation et ne doivent pas être utilisés chez les individus ayant subi une primo-infection naturelle à *C. burnetii*. Dans ce cas, de fortes réactions immunitaires peuvent être déclenchées. Par ailleurs, et pour la même raison, le rappel n'est pas recommandé (Bell et al. 1964). Le seul vaccin disponible est composé de *C. burnetii* (souche Henzerling) cultivée sur œufs embryonnés et inactivée par le formol. Il est actuellement commercialisé en Australie sous le nom de Q-Vax® (Commonwealth Serum Laboratories, Parkville, Victoria, Australie) et offre une protection suffisante pendant 5 ans (Marmion et al. 1990). Il est indissociable du test Q-VAX Skin Test® qui doit être utilisé et donner une réponse négative avant toute vaccination. Ce vaccin ne doit pas être administré à des personnes allergiques à l'œuf. À la suite de l'épidémie de fièvre Q, les autorités aux Pays-Bas recommandent également la vaccination des populations à risque tels que les malades cardiaques (Gefenaite et al. 2011).

#### Vaccin corpusculaire traité chimiquement

Ce vaccin est fabriqué à partir du vaccin corpusculaire phase I après traitement par du chloroforme méthanol. À dose comparable, il induit moins de réactions locales au point d'injection. Cependant, il n'est pas complètement inoffensif et cause des lésions indurées importantes chez le cobaye (Elliott et al. 1998). Une étude, plus récente, réalisée chez le singe, a montré que la protection conférée par ce vaccin était comparable au Q-Vax® (Waag et al. 2002).

#### Vaccin soluble

Kazar et ses collaborateurs ont testé un vaccin soluble préparé au départ de la souche Nine Mile en phase I par extraction à l'acide trichloroacétique. En ex-Tchécoslovaquie, chez des travailleurs à haut risque d'infection, une réponse immunitaire significative fut

générée, mais des réactions locales et systémiques se produisirent chez les individus ayant préalablement été infectés par *C. burnetii* (Kazar et al. 1982).

#### Chez l'animal

Les vaccins composés d'antigènes corpusculaires de phase I sont les seuls efficaces (Zhang et al. 2007). L'excrétion bactérienne dans le placenta et le lait a été réduite chez des chèvres, des moutons ou des vaches inoculés avec des vaccins phase I, puis infectés, naturellement ou expérimentalement (Arricau-Bouvery et al. 2005; Guatteo et al. 2008). Il semble que le vaccin phase I protège les animaux sains avant vaccination, mais n'empêche pas l'excrétion chez les animaux préalablement infectés (Guatteo et al. 2008). À l'inverse, l'utilisation d'un vaccin de phase II ne permet pas de protéger les animaux ou d'empêcher l'excrétion (Arricau-Bouvery et al. 2005). En effet, Ormsbee et ses collaborateurs ont montré que l'utilisation d'un vaccin WC phase I chez le cobaye était 100 à 300 fois plus protecteur qu'un vaccin WC phase II comparable (Ormsbee et al. 1964).

Deux vaccins contre *C. burnetii* sont actuellement commercialisés en Europe :

- Le vaccin WC Chlamyvac FQ (Merial) composé de *C. burnetii* phase II et *Chlamydomydia abortus* inactivées par le formol.
- Le vaccin Coxevac® (CEVA Santé Animale, Libourne, France) est composé de *C. burnetii* en phase I inactivées par le formol.

Le vaccin Coxevac® a démontré son efficacité dans la prévention des avortements aussi bien que la réduction de l'excrétion du germe chez les chèvres et les bovins (Arricau-Bouvery et al. 2005; Hogerwerf et al. 2011; Guatteo et al. 2012). La vaccination des chèvres et des bovins est plus efficace chez les animaux primipares, elle réduit la prévalence des animaux excréteurs ainsi que la charge bactérienne. Cependant, la vaccination ne semble pas être efficace chez les chèvres et les bovins préalablement infectés, ni chez les vaches gestantes (Guatteo et al. 2008; Rousset et al. 2009; Hogerwerf et al. 2011). D'autres inconvénients du vaccin sont son processus de production compliqué, le besoin de travailler en laboratoire de biosécurité de niveau 3 pour sa production et l'impossibilité de pouvoir différencier les animaux vaccinés des animaux infectés. De plus, la durée de protection vaccinale n'est pas encore complètement investiguée à ce jour.

#### Remerciements

Les auteurs aimeraient remercier Patrick Michel et Philippe Vannoorenberghe pour leur aide technique. Ce travail a été partiellement subventionné par le Service Public Fédéral Santé publique, Sécurité et de la Chaîne alimentaire et Environnement (contrat RF 10/6228 DiVaCox). Le travail de Samira Boarbi et Marcella Mori a été réalisé en partie dans le cadre du réseau EurNegVec COST Action TD1303.

#### Bibliographie

- Agences Régionale de Santé. 2014. Investigation et prise en charge d'une épidémie de fièvre Q Sud Drome et Nord Vaucluse mai-juin 2014. Disponible au [http://www.invs.sante.fr/content/download/97707/352958/version/1/file/FievreQ\\_Valreas.pdf](http://www.invs.sante.fr/content/download/97707/352958/version/1/file/FievreQ_Valreas.pdf).
- Agerholm, J.S. 2013. *Coxiella burnetii* associated reproductive disorders in domestic animals — a critical review. Acta Vet. Scand. **55** : 13. doi:10.1186/1751-0147-55-13. PMID:23419216.
- Alsaleh, A., Fieni, F., Moreno, D., Rousset, E., Tainturier, D., Bruyas, J.F. et Pellerin, J.L. 2014. Risk of *Coxiella burnetii* transmission via embryo transfer using in vitro early bovine embryos. Theriogenology, **81** : 849–853. doi:10.1016/j.theriogenology.2013.12.015. PMID:24480480.
- Amitai, Z., Bromberg, M., Bernstein, M., Raveh, D., Keysary, A., David, D., et al. 2010. A large Q fever outbreak in an urban school in central Israel. Clin. Infect. Dis. **50** : 1433–1438. doi:10.1086/652442. PMID:20415568.
- Anderson, A.D., Kruszon-Moran, D., Loftis, A.D., McQuillan, G., Nicholson, W.L., Priestley, R.A., et al. 2009. Seroprevalence of Q fever in the United States, 2003–2004. Am. J. Trop. Med. Hyg. **81** : 691–694. doi:10.4269/ajtmh.2009.09-0168. PMID:19815888.
- Anderson, A., Bijlmer, H., Fournier, P.E., Graves, S., Hartzell, J., Kersh, G.J., et al. 2013. Diagnosis and management of Q fever—United States, 2013: recommendations from CDC and the Q Fever Working Group. MMWR Recomm. Rep. **62** : 1–30. PMID:23535757.
- Angelakis, E. et Raoult, D. 2010. Q Fever. Vet. Microbiol. **140**: 297–309. doi:10.1016/j.vetmic.2009.07.016. PMID:19875249.
- Arricau-Bouvery, N. et Rodolakis, A. 2005. Is Q fever an emerging or re-emerging zoonosis? Vet. Res. **36** : 327–349. doi:10.1051/vetres:2005010. PMID:15845229.
- Arricau-Bouvery, N., Souriau, A., Bodier, C., Dufour, P., Rousset, E. et Rodolakis, A. 2005. Effect of vaccination with phase I and phase II *Coxiella burnetii* vaccines in pregnant goats. Vaccine, **23** : 4392–4402. doi:10.1016/j.vaccine.2005.04.010. PMID:16005747.
- Arricau-Bouvery, N., Hauck, Y., Bejaoui, A., Frangoulidis, D., Bodier, C.C., Souriau, A., et al. 2006. Molecular characterization of *Coxiella burnetii* isolates by infrequent restriction site-PCR and MLVA typing. BMC Microbiol. **6** : 38. doi:10.1186/1471-2180-6-38. PMID:16640773.
- Astobiza, I., Barral, M., Ruiz-Fons, F., Barandika, J.F., Gerrikagoitia, X., Hurtado, A. et Garcia-Perez, A.L. 2011. Molecular investigation of the occurrence of *Coxiella burnetii* in wildlife and ticks in an endemic area. Vet. Microbiol. **147** : 190–194. doi:10.1016/j.vetmic.2010.05.046. PMID:20580169.
- Astobiza, I., Ruiz-Fons, F., Pinero, A., Barandika, J.F., Hurtado, A. et Garcia-Perez, A.L. 2012a. Estimation of *Coxiella burnetii* prevalence in dairy cattle in intensive systems by serological and molecular analyses of bulk-tank milk samples. J. Dairy Sci. **95** : 1632–1638. doi:10.3168/jds.2011-4721. PMID:22459811.
- Astobiza, I., Tilburg, J.J., Pinero, A., Hurtado, A., Garcia-Perez, A.L., Nabuurs-Franssen, M.H. et Klaassen, C.H. 2012b. Genotyping of *Coxiella burnetii* from domestic ruminants in northern Spain. BMC Vet. Res. **8** : 241. doi:10.1186/1746-6148-8-241. PMID:23227921.
- Babadieri, B. 1959. Q fever: a zoonosis. Adv. Vet. Sci. **5** : 82–182.
- Babadieri, B. et Moscovici, C. 1950. [Research on the behavior of *Coxiella burnetii* in relation to various physical and chemical agents]. Rend. Ist. Sup. Sanit. **13**: 739–748. PMID:14844797.
- Baca, O.G. et Paretsky, D. 1983. Q fever and *Coxiella burnetii*: a model for host-parasite interactions. Microbiol. Rev. **47** : 127–149. PMID:6348504.
- Baca, O.G., Klassen, D.A. et Aragon, A.S. 1993. Entry of *Coxiella burnetii* into host cells. Acta Virol. **37**: 143–155. PMID:8105658.
- Baker, M.D. et Pithua, P.O. 2014. Low seroprevalence of *Coxiella*

- burnetii* in Boer goats in Missouri. BMC Res. Notes, **7** : 421. doi:10.1186/1756-0500-7-421. PMID:24994554.
- Beare, P.A., Samuel, J.E., Howe, D., Virtaneva, K., Porcella, S.F. et Heinzen, R.A. 2006. Genetic diversity of the Q fever agent, *Coxiella burnetii*, assessed by microarray-based whole-genome comparisons. J. Bacteriol. **188** : 2309–2324. doi:10.1128/JB.188.7.2309-2324.2006. PMID:16547017.
- Beare, P.A., Gilk, S.D., Larson, C.L., Hill, J., Stead, C.M., Omsland, A., et al. 2011. Dot/Icm type IVB secretion system requirements for *Coxiella burnetii* growth in human macrophages. MBio, **2** : e00175–11. doi:10.1128/mBio.00175-11. PMID:21862628.
- Beare, P.A., Unsworth, N., Andoh, M., Voth, D.E., Omsland, A., Gilk, S.D., et al. 2009. Comparative genomics reveal extensive transposon-mediated genomic plasticity and diversity among potential effector proteins within the genus *Coxiella*. Infect. Immun. **77** : 642–656. doi:10.1128/IAI.01141-08. PMID:19047403.
- Bechah, Y., Verneau, J., Ben Amara, A., Barry, A.O., Lepolard, C., Achard, V., et al. 2014. Persistence of *Coxiella burnetii*, the agent of Q fever, in murine adipose tissue. PLoS One, **9** : e97503. doi:10.1371/journal.pone.0097503. PMID:24835240.
- Bell, J.F., Lackman, D.B., Meis, A. et Hadlow, W.J. 1964. Recurrent reaction of site of Q fever vaccination in a sensitized person. Mil. Med. **129**: 591–595. PMID:14199980.
- Bellini, C., Magouras, I., Chapuis-Taillard, C., Clerc, O., Masserey, E., Peduto, G., et al. 2014. Q fever outbreak in the terraced vineyards of Lavaux, Switzerland. New Microbes New Infect. **2** : 93–99. doi:10.1002/nmi2.37. PMID:25356353.
- Ben, Amara, A., Ghigo, E., Le Priol, Y., Lepolard, C., Salcedo, S.P., Lemichez, E., et al. 2010. *Coxiella burnetii*, the agent of Q fever, replicates within trophoblasts and induces a unique transcriptional response. PLoS One, **5** : e15315. doi:10.1371/journal.pone.0015315. PMID:21179488.
- Benson, W.W., Brock, D.W. et Mather, J. 1963. Serologic analysis of a penitentiary group using raw milk from a Q fever infected herd. Public Health Rep. **78** : 707–710. doi:10.2307/4591908. PMID:14049191.
- Berri, M., Souriau, A., Crosby, M. et Rodolakis, A. 2002. Shedding of *Coxiella burnetii* in ewes in two pregnancies following an episode of *Coxiella* abortion in a sheep flock. Vet. Microbiol. **85** : 55–60. doi:10.1016/S0378-1135(01)00480-1. PMID:11792492.
- Berri, M., Rousset, E., Champion, J.L., Arricau-Bouvery, N., Russo, P., Pepin, M. et Rodolakis, A. 2003. Ovine manure used a garden fertiliser as a suspected source of human Q fever. Vet. Rec. **153** : 269–270. doi:10.1136/vr.153.9.269. PMID:12974339.
- Berri, M., Crochet, D., Santiago, S. et Rodolakis, A. 2005. Spread of *Coxiella burnetii* infection in a flock of sheep after an episode of Q fever. Vet. Rec. **157** : 737–740. doi:10.1136/vr.157.23.737. PMID:16326967.
- Berri, M., Rousset, E., Champion, J.L., Russo, P. et Rodolakis, A. 2007. Goats may experience reproductive failures and shed *Coxiella burnetii* at two successive parturitions after a Q fever infection. Res. Vet. Sci. **83** : 47–52. doi:10.1016/j.rvsc.2006.11.001. PMID:17187835.
- Blaauw, G.J., Notermans, D.W., Schimmer, B., Meekelenkamp, J., Reimerink, J.H., Teunis, P. et Schneeberger, P.M. 2012. The application of an enzyme-linked immunosorbent assay or an immunofluorescent assay test leads to different estimates of seroprevalence of *Coxiella burnetii* in the population. Epidemiol. Infect. **140** : 36–41. doi:10.1017/S0950268811000021. PMID:21320371.
- Boarbi, S., Mori, M., Rousset, E., Sidi-Boumedine, K., Van Esbroeck, M. et Fretin, D. 2014. Prevalence and molecular typing of *Coxiella burnetii* in bulk tank milk in Belgian dairy goats, 2009–2013. Vet. Microbiol. **170** : 117–124. doi:10.1016/j.vetmic.2014.01.025. PMID:24598136.
- Boschini, A., Di Perri, G., Legnani, D., Fabbri, P., Ballarini, P., Zucconi, R., et al. 1999. Consecutive epidemics of Q fever in a residential facility for drug abusers: impact on persons with human immunodeficiency virus infection. Clin. Infect. Dis. **28** : 866–872. doi:10.1086/515192. PMID:10825052.
- Broederdorf, L.J. et Voth, D.E. 2011. Cheating death: a *Coxiella* effector prevents apoptosis. Front. Microbiol. **2** : 43. doi:10.3389/fmicb.2011.00043. PMID:21747783.
- Brooke, R.J., Kretzschmar, M.E., Mutters, N.T. et Teunis, P.F. 2013. Human dose response relation for airborne exposure to *Coxiella burnetii*. BMC Infect. Dis. **13** : 488. doi:10.1186/1471-2334-13-488. PMID:24138807.
- Bru, J.-P., Cazorla, C., Choutet, P., Fournier, P.-E., Le Goaster, C., Mailles, A., et al. 2013. Fièvre Q. Recommandations de prise en charge. HCSP (Haut Conseil de la Santé Publique). Disponible au [http://www.hcsp.fr/Explore.cgi/Telecharger?NomFichier=hcspr20130524\\_fievreQrecoprisecharge.pdf](http://www.hcsp.fr/Explore.cgi/Telecharger?NomFichier=hcspr20130524_fievreQrecoprisecharge.pdf).
- Burnet, F.M. et Freeman, M. 1983. Experimental studies on the virus of “Q” fever. Rev. Infect. Dis. **5** : 800–808. doi:10.1093/clinids/5.4.800. PMID:6194551.
- Carcopino, X., Raoult, D., Bretelle, F., Boubli, L. et Stein, A. 2009. Q fever during pregnancy: a cause of poor fetal and maternal outcome. Ann. N. Y. Acad. Sci. **1166** : 79–89. doi:10.1111/j.1749-6632.2009.04519.x. PMID:19538266.
- Carey, K.L., Newton, H.J., Luhrmann, A. et Roy, C.R. 2011. The *Coxiella burnetii* Dot/Icm system delivers a unique repertoire of type IV effectors into host cells and is required for intracellular replication. PLoS Pathog. **7** : e1002056. doi:10.1371/journal.ppat.1002056. PMID:21637816.
- Carrieri, M.P., Tissot-Dupont, H., Rey, D., Brousse, P., Renard, H., Obadia, Y. et Raoult, D. 2002. Investigation of a slaughterhouse-related outbreak of Q fever in the French Alps. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. **21** : 17–21. doi:10.1007/s10096-001-0645-5. PMID:11913496.
- CDC. 2013. Q fever. Centers for Disease Control and Prevention. Disponible au <http://www.cdc.gov/qfever/> (consulté le 7 juin 2013).
- Chmielewski, T. et Tylewska-Wierzbanowska, S. 2013. Q fever outbreaks in Poland during 2005–2011. Med. Sci. Monit. **19** : 1073–1079. doi:10.12659/MSM.889947. PMID:24284912.
- Chmielewski, T., Sidi-Boumedine, K., Duquesne, V., Podsiadly, E., Thiery, R. et Tylewska-Wierzbanowska, S. 2009. Molecular epidemiology of Q fever in Poland. Pol. J. Microbiol. **58** : 9–13. PMID:19469280.
- Cutler, S.J., Bouzid, M. et Cutler, R.R. 2007. Q fever. J. Infect. **54** : 313–318. doi:10.1016/j.jinf.2006.10.048. PMID:17147957.
- CVI. 2007. *Coxiella burnetii* RSA 331. Craig Venter Institute. c. l., ed. Available from [http://gsc.jcvi.org/projects/msc/coxiella\\_burnetii/coxiella\\_burnetii\\_rsa\\_331/index.shtml](http://gsc.jcvi.org/projects/msc/coxiella_burnetii/coxiella_burnetii_rsa_331/index.shtml) (consulté le 31/10/2010).
- Czaplicki, G., Houtain, J.Y., Mullender, C., Porter, S.R., Humblet, M.F., Manteca, C. et Saegerman, C. 2011. Apparent prevalence of antibodies to *Coxiella burnetii* (Q fever) in bulk tank milk from dairy herds in southern Belgium. Vet. J. **192**(3) : 529–531. doi:10.1016/j.tvjl.2011.08.033. PMID:21962829.
- D’Amato, F., Million, M., Edouard, S., Delerce, J., Robert, C., Marrie, T. et Raoult, D. 2014a. Draft genome sequence of *Coxiella burnetii* Dog Utad, a strain isolated from a dog-related outbreak of Q fever. New Microbes New Infect. **2** : 136–137. doi:10.1002/nmi2.55. PMID:25356361.
- D’Amato, F., Robert, C., Azhar, E.I., Fournier, P.E. et Raoult, D. 2014b. Draft genome sequence of *Coxiella burnetii* strain Cb196, an agent of endocarditis in Saudi Arabia. Genome Announc. **2**(6) : e01180-14. doi:10.1128/genomeA.01180-14. PMID:25428964.
- D’Amato, F., Rouli, L., Edouard, S., Tyczka, J., Million, M., Robert, C., et al. 2014c. The genome of *Coxiella burnetii* Z3055, a clone linked to the Netherlands Q fever outbreaks, provides evidence for the role of drift in the emergence of epidemic

- clones. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* **37**(5–6) : 281–288. doi:10.1016/j.cimid.2014.08.003. PMID:25249233.
- D'Amato, F., Eldin, C., Georgiades, K., Edouard, S., Delerce, J., Labas, N. et Raoult, D. 2015. Loss of TSS1 in hypervirulent *Coxiella burnetii* 175, the causative agent of Q fever in French Guiana. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* **41** : 35–41. doi:10.1016/j.cimid.2015.04.003. PMID:25982513.
- de Bruin, A., de Groot, A., de Heer, L., Bok, J., Wielinga, P.R., Hamans, M., et al. 2011. Detection of *Coxiella burnetii* in complex matrices by using multiplex quantitative PCR during a major Q fever outbreak in The Netherlands. *Appl. Environ. Microbiol.* **77** : 6516–6523. doi:10.1128/AEM.05097-11. PMID:21784920.
- de los Rios-Martin, R., Sanz-Moreno, J.C., Martin-Martinez, F., Tebar-Betegon, M.A., Cortes-Garcia, M. et Escudero-Nieto, R. 2006. [Q fever outbreak in an urban area following a school-farm visit]. *Med. Clin. (Barc.)*, **126** : 573–575. PMID:16756920.
- Delsing, C.E., Kullberg, B.J. et Bleeker-Rovers, C.P. 2010. Q fever in the Netherlands from 2007 to 2010. *Neth. J. Med.* **68** : 382–387. PMID:21209463.
- Denison, A.M., Thompson, H.A. et Massung, R.F. 2007. IS1111 insertion sequences of *Coxiella burnetii*: characterization and use for repetitive element PCR-based differentiation of *Coxiella burnetii* isolates. *BMC Microbiol.* **7** : 91. doi:10.1186/1471-2180-7-91. PMID:17949485.
- Derrick, E.H. 1983. “Q” fever, a new fever entity: clinical features, diagnosis and laboratory investigation. *Rev. Infect. Dis.* **5** : 790–800. PMID:6622891.
- Dijkstra, F., van der Hoek, W., Wijers, N., Schimmer, B., Rietveld, A., Wijkman, C.J., et al. 2012. The 2007–2010 Q fever epidemic in The Netherlands: characteristics of notified acute Q fever patients and the association with dairy goat farming. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* **64** : 3–12. doi:10.1111/j.1574-695X.2011.00876.x. PMID:22066649.
- Dupont, H.T., Thirion, X. et Raoult, D. 1994. Q fever serology: cutoff determination for microimmunofluorescence. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* **1** : 189–196. PMID:7496944.
- Duron, O., Noel, V., McCoy, K.D., Bonazzi, M., Sidi-Boumedine, K., Morel, O., et al. 2015. The recent evolution of a maternally-inherited endosymbiont of ticks led to the emergence of the Q fever pathogen, *Coxiella burnetii*. *PLoS Pathog.* **11** : e1004892. doi:10.1371/journal.ppat.1004892. PMID:25978383.
- EFSA Panel on Animal Health and Welfare (AHAW). 2010. Scientific Opinion on Q Fever. *EFSA J.* **8**(5): 1595. doi:10.2903/j.efsa.2010.1595.
- Ejercito, C.L., Cai, L., Htwe, K.K., Taki, M., Inoshima, Y., Kondo, T., et al. 1993. Serological evidence of *Coxiella burnetii* infection in wild animals in Japan. *J. Wildl. Dis.* **29** : 481–484. doi:10.7589/0090-3558-29.3.481. PMID:8355353.
- Eldin, C., Angelakis, E., Renvoise, A. et Raoult, D. 2013. *Coxiella burnetii* DNA, but not viable bacteria, in dairy products in France. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **88** : 765–769. doi:10.4269/ajtmh.12-0212. PMID:23382158.
- Elliott, J.J., Ruble, D.L., Zaucha, G.M., Jaax, G.P. et Waag, D.M. 1998. Comparison of Q fever cellular and chloroform-methanol residue vaccines as skin test antigens in the sensitized guinea pig. *Acta Virol.* **42** : 147–155. PMID:9842444.
- Emery, M.P., Ostlund, E.N., Ait, Ichou, M., Ballin, J.D., McFarling, D. et McGonigle, L. 2014. *Coxiella burnetii* serology assays in goat abortion storm. *J. Vet. Diagn. Invest.* **26** : 141–145. doi:10.1177/1040638713517233. PMID:24532695.
- Fournier, P.E., Marrie, T.J. et Raoult, D. 1998. Diagnosis of Q fever. *J. Clin. Microbiol.* **36** : 1823–1834. PMID:9650920.
- Frankel, D., Richet, H., Renvoise, A. et Raoult, D. 2011. Q fever in France, 1985–2009. *Emerg. Infect. Dis.* **17** : 350–356. doi:10.3201/eid1703.100882. PMID:21392423.
- Gale, P., Kelly, L., Mearns, R., Duggan, J. et Snary, E.L. 2015. Q fever through consumption of unpasteurised milk and milk products — a risk profile and exposure assessment. *J. Appl. Microbiol.* **118** : 1083–1095. doi:10.1111/jam.12778. PMID:25692216.
- Garcia-Clemente, M., Seco-Garcia, A.J., Gutierrez-Rodriguez, M., Romero-Alvarez, P., Fernandez-Bustamante, J. et Rodriguez-Perez, M. 2007. [Outbreak of *Coxiella burnetii* pneumonia]. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* **25** : 184–186. doi:10.1157/13099370. PMID:17335697.
- Gefenaite, G., Munster, J.M., van Houdt, R. et Hak, E. 2011. Effectiveness of the Q fever vaccine: a meta-analysis. *Vaccine*, **29** : 395–398. doi:10.1016/j.vaccine.2010.11.008. PMID:21094268.
- Genig, V.A. 1968. A live vaccine 1-M-44 against Q-fever for oral use. *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.* **12** : 265–273. PMID:5753316.
- Georgiev, M., Afonso, A., Neubauer, H., Needham, H., Thiery, R., Rodolakis, A., et al. 2013. Q fever in humans and farm animals in four European countries, 1982 to 2010. *Euro Surveill.* **18**. PMID:23449232.
- Gilsdorf, A., Kroh, C., Grimm, S., Jensen, E., Wagner-Wiening, C. et Alpers, K. 2008. Large Q fever outbreak due to sheep farming near residential areas, Germany, 2005. *Epidemiol. Infect.* **136** : 1084–1087. doi:10.1017/S0950268807009533. PMID:17892631.
- Glazunova, O., Roux, V., Freylikman, O., Sekeyova, Z., Fournous, G., Tyczka, J., et al. 2005. *Coxiella burnetii* genotyping. *Emerg. Infect. Dis.* **11** : 1211–1217. doi:10.3201/eid1108.041354. PMID:16102309.
- Gonzalez-Barrio, D., Almeria, S., Caro, M.R., Salinas, J., Ortiz, J.A., Gortazar, C. et Ruiz-Fons, F. 2015a. *Coxiella burnetii* Shedding by Farmed Red Deer (*Cervus elaphus*). *Transbound. Emerg. Dis.* **62**(5) : 572–574. doi:10.1111/tbed.12179. PMID:24127840.
- Gonzalez-Barrio, D., Maio, E., Vieira-Pinto, M. et Ruiz-Fons, F. 2015b. European Rabbits as Reservoir for *Coxiella burnetii*. *Emerg. Infect. Dis.* **21** : 1055–1058. doi:10.3201/eid2106.141537. PMID:25988670.
- Grilc, E., Socan, M., Koren, N., Ucakar, V., Avsic, T., Pogacnik, M. et Kraigher, A. 2007. Outbreak of Q fever among a group of high school students in Slovenia, March–April 2007. *Euro Surveill.* **12** : E070719.1. PMID:17868556.
- Guatteo, R., Beaudeau, F., Berri, M., Rodolakis, A., Joly, A. et Seegers, H. 2006. Shedding routes of *Coxiella burnetii* in dairy cows: implications for detection and control. *Vet. Res.* **37** : 827–833. doi:10.1051/vetres:2006038. PMID:16973121.
- Guatteo, R., Seegers, H., Joly, A. et Beaudeau, F. 2008. Prevention of *Coxiella burnetii* shedding in infected dairy herds using a phase I C. *burnetii* inactivated vaccine. *Vaccine*, **26** : 4320–4328. doi:10.1016/j.vaccine.2008.06.023. PMID:18586060.
- Guatteo, R., Seegers, H., Taurel, A.F., Joly, A. et Beaudeau, F. 2011. Prevalence of *Coxiella burnetii* infection in domestic ruminants: a critical review. *Vet. Microbiol.* **149** : 1–16. doi:10.1016/j.vetmic.2010.10.007. PMID:21153308.
- Guatteo, R., Joly, A. et Beaudeau, F. 2012. Shedding and serological patterns of dairy cows following abortions associated with *Coxiella burnetii* DNA detection. *Vet. Microbiol.* **155**(2–4) : 430–433. doi:10.1016/j.vetmic.2011.09.026. PMID:21996545.
- Gyuranecz, M., Denes, B., Hornok, S., Kovacs, P., Horvath, G., Jurkovich, V., et al. 2012. Prevalence of *Coxiella burnetii* in Hungary: screening of dairy cows, sheep, commercial milk samples, and ticks. *Vector Borne Zoonotic Dis.* **12** : 650–653. doi:10.1089/vbz.2011.0953. PMID:22651386.
- Gyuranecz, M., Sulyok, K., Balla, E., Mag, T., Balazs, A., Simor, Z., et al. 2014. Q fever epidemic in Hungary, April to July 2013. *Euro Surveill.* **19**. doi:10.2807/1560-7917.ES2014.19.30.20863. PMID:25108535.
- Hackert, V.H., van der Hoek, W., Dukers-Muijrs, N., de Bruin, A., Al Dahouk, S., Neubauer, H., et al. 2012. Q fever: single-point source outbreak with high attack rates and massive numbers of undetected infections across an entire re-



- gion. *Clin. Infect. Dis.* **55** : 1591–1599. doi:10.1093/cid/cis734. PMID:22918992.
- Hammerl, J.A., Mertens, K., Sprague, L.D., Hackert, V.H., Buijs, J., Hoebe, C.J., et al. 2015. First draft genome sequence of a human *Coxiella burnetii* isolate, originating from the largest Q fever outbreak ever reported, the Netherlands, 2007 to 2010. *Genome Announc.* **3** : e00445-15. doi:10.1128/genomeA.00445-15. PMID:25953164.
- Hatchette, T., Campbell, N., Hudson, R., Raoult, D. et Marrie, T.J. 2003. Natural history of Q fever in goats. *Vector Borne Zoonotic Dis.* **3** : 11–15. doi:10.1089/153036603765627415. PMID:12804376.
- Hawker, J.I., Ayres, J.G., Blair, I., Evans, M.R., Smith, D.L., Smith, E.G., et al. 1998. A large outbreak of Q fever in the West Midlands: windborne spread into a metropolitan area? *Commun. Dis. Public Health*, **1** : 180–187. PMID:9782633.
- Heinzen, R.A., Hackstadt, T. et Samuel, J.E. 1999. Developmental biology of *Coxiella burnetii*. *Trends Microbiol.* **7** : 149–154. doi:10.1016/S0966-842X(99)01475-4. PMID:10217829.
- Henning, K., Hotzel, H., Peters, M., Welge, P., Popp, W. et Theegarten, D. 2009. [Unanticipated outbreak of Q fever during a study using sheep, and its significance for further projects]. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* **122** : 13–19. doi:10.2376/0005-9366-122-13. PMID:19226931.
- Hermans, M.H., Huijsmans, C.R., Schellekens, J.J., Savelkoul, P.H. et Wever, P.C. 2011. *Coxiella burnetii* DNA in goat milk after vaccination with Coxevac(R). *Vaccine*, **29** : 2653–2656. doi:10.1016/j.vaccine.2011.01.111. PMID:21320538.
- Hermans, T., Jeurissen, L., Hackert, V. et Hoebe, C. 2014. Land-applied goat manure as a source of human Q-fever in the Netherlands, 2006–2010. *PLoS One*, **9** : e96607. doi:10.1371/journal.pone.0096607. PMID:24788538.
- Hirai, K. et To, H. 1998. Advances in the understanding of *Coxiella burnetii* infection in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* **60** : 781–790. doi:10.1292/jvms.60.781. PMID:9713803.
- Hogerwerf, L., van den Brom, R., Roest, H.I., Bouma, A., Vellema, P., Pieterse, M., et al. 2011. Reduction of *Coxiella burnetii* prevalence by vaccination of goats and sheep, the Netherlands. *Emerg. Infect. Dis.* **17** : 379–386. doi:10.3201/eid1703.101157. PMID:21392427.
- Horigan, M.W., Bell, M.M., Pollard, T.R., Sayers, A.R. et Pritchard, G.C. 2011. Q fever diagnosis in domestic ruminants: comparison between complement fixation and commercial enzyme-linked immunosorbent assays. *J. Vet. Diagn. Invest.* **23** : 924–931. doi:10.1177/1040638711416971. PMID:21908348.
- Huijsmans, C.J., Schellekens, J.J., Wever, P.C., Toman, R., Savelkoul, P.H., Janse, I. et Hermans, M.H. 2011. Single-nucleotide-polymorphism genotyping of *Coxiella burnetii* during a Q fever outbreak in the Netherlands. *Appl. Environ. Microbiol.* **77** : 2051–2057. doi:10.1128/AEM.02293-10. PMID:21257816.
- Hunter, P.R. et Gaston, M.A. 1988. Numerical index of the discriminatory ability of typing systems : an application of Simpson's index of diversity. *J. Clin. Microbiol.* **26** : 2465–2466. PMID:3069867.
- Isken, L.D., Kraaij-Dirkzwager, M., Vermeer-de Bondt, P.E., Rumke, H.C., Wijkman, C., Opstelten, W. et Timen, A. 2013. Implementation of a Q fever vaccination program for high-risk patients in the Netherlands. *Vaccine*, **31** : 2617–2622. doi:10.1016/j.vaccine.2013.03.062. PMID:23583810.
- Jager, C., Willems, H., Thiele, D. et Baljer, G. 1998. Molecular characterization of *Coxiella burnetii* isolates. *Epidemiol. Infect.* **120** : 157–164. doi:10.1017/S0950268897008510. PMID:9593485.
- Jager, C., Lautenschlager, S., Willems, H. et Baljer, G. 2002. *Coxiella burnetii* plasmid types QpDG and QpH1 are closely related and likely identical. *Vet. Microbiol.* **89** : 161–166. doi:10.1016/S0378-1135(02)00155-4. PMID:12243893.
- Johnson, J.W., McLeod, C.G., Stookey, J.L., Higbee, G.A., et Pedersen, C.E., Jr. 1977. Lesions in guinea pigs infected with *Coxiella burnetii* strain M-44. *J. Infect. Dis.* **135** : 995–998. doi:10.1093/infdis/135.6.995. PMID:864292.
- Kampschreur, L.M., Dekker, S., Hagenaars, J.C., Lestrade, P.J., Renders, N.H., de Jager-Leclercq, M.G., et al. 2012. Identification of risk factors for chronic Q fever, the Netherlands. *Emerg. Infect. Dis.* **18** : 563–570. doi:10.3201/eid1804.111478. PMID:22469535.
- Kampschreur, L.M., Wegdam-Blans, M.C., Wever, P.C., Renders, N.H., Delsing, C.E., Sprong, T., et al. 2015. Chronic Q fever diagnosis — consensus guideline versus expert opinion. *Emerg. Infect. Dis.* **21** : 1183–1188. doi:10.3201/eid2107.130955. PMID:26277798.
- Kaplan, M.M. et Bertagna, P. 1955. The geographical distribution of Q fever. *Bull. World Health Organ.* **13** : 829–860. PMID:13284560.
- Karagiannis, I., Schimmer, B., Van Lier, A., Timen, A., Schneeberger, P., Van Rotterdam, B., et al. 2009. Investigation of a Q fever outbreak in a rural area of the Netherlands. *Epidemiol. Infect.* **137** : 1283–1294. doi:10.1017/S0950268808001908. PMID:19161644.
- Karlsson, E., Macellaro, A., Bystrom, M., Forsman, M., Frangoulidis, D., Janse, I., et al. 2014. Eight new genomes and synthetic controls increase the accessibility of rapid melt-MAMA SNP typing of *Coxiella burnetii*. *PLoS One*, **9** : e85417. doi:10.1371/journal.pone.0085417. PMID:24465554.
- Kazar, J., Brezina, R., Palanova, A., Tvrdá, B. et Schramek, S. 1982. Immunogenicity and reactivity of a Q fever chemovaccine in persons professionally exposed to Q fever in Czechoslovakia. *Bull. World Health Organ.* **60** : 389–394. PMID:6982774.
- Kersh, G.J., Fitzpatrick, K.A., Self, J.S., Priestley, R.A., Kelly, A.J., Lash, R.R., et al. 2013. Presence and persistence of *Coxiella burnetii* in the environments of goat farms associated with a Q fever outbreak. *Appl. Environ. Microbiol.* **79** : 1697–1703. doi:10.1128/AEM.03472-12. PMID:23315737.
- Kim, S.G., Kim, E.H., Lafferty, C.J. et Dubovi, E. 2005. *Coxiella burnetii* in bulk tank milk samples, United States. *Emerg. Infect. Dis.* **11** : 619–621. doi:10.3201/eid1104.041036. PMID:15829205.
- Klee, S.R., Tyczka, J., Ellerbrok, H., Franz, T., Linke, S., Baljer, G. et Appel, B. 2006. Highly sensitive real-time PCR for specific detection and quantification of *Coxiella burnetii*. *BMC Microbiol.* **6** : 2. doi:10.1186/1471-2180-6-2. PMID:16423303.
- Klingenberg, L., Eckart, R.A., Berens, C. et Luhrmann, A. 2013. The *Coxiella burnetii* type IV secretion system substrate CaeB inhibits intrinsic apoptosis at the mitochondrial level. *Cell. Microbiol.* **15** : 13. doi:10.1111/cmi.12066. PMID:23126667.
- Komiya, T., Sadamasu, K., Kang, M.I., Tsuboshima, S., Fukushi, H. et Hirai, K. 2003. Seroprevalence of *Coxiella burnetii* infections among cats in different living environments. *J. Vet. Med. Sci.* **65** : 1047–1048. doi:10.1292/jvms.65.1047. PMID:14532705.
- Krumbiegel, E.R. et Wisniewski, H.J. 1970. Q fever in the Milwaukee area. II. Consumption of infected raw milk by human volunteers. *Arch. Environ. Health*, **21** : 63–65. doi:10.1080/00039896.1970.10667193. PMID:5467889.
- Kruszewska, D. et Tylewska-Wierzbanowska, S. 1997. Isolation of *Coxiella burnetii* from bull semen. *Res. Vet. Sci.* **62** : 299–300. doi:10.1016/S0034-5288(97)90210-1. PMID:9300554.
- La Scola, B. et Raoult, D. 2001. Survival of *Coxiella burnetii* within free-living amoeba *Acanthamoeba castellanii*. *Clin. Microbiol. Infect.* **7** : 75–79. doi:10.1046/j.1469-0691.2001.00193.x. PMID:11298146.
- La Scola, B., Lepidi, H. et Raoult, D. 1997. Pathologic changes

- during acute Q fever: influence of the route of infection and inoculum size in infected guinea pigs. *Infect. Immun.* **65** : 2443–2447. PMID:9169787.
- Lautenschlager, S., Willems, H., Jager, C. et Baljer, G. 2000. Sequencing and characterization of the cryptic plasmid QpRS from *Coxiella burnetii*. *Plasmid*, **44** : 85–88. doi:10.1006/plas.2000.1470. PMID:10873529.
- Leroy, Q., Armougom, F., Barbry, P. et Raoult, D. 2011. Genotyping of *Coxiella burnetii* using microarrays reveals a conserved genomotype for hard tick isolates. *PLoS One*, **6** : e25781. doi:10.1371/journal.pone.0025781. PMID:22046248.
- Levy, P.Y. et Raoult, D. 2000. La fièvre Q. La lettre de l'Infectiologue Tome XV, pp. 152–156.
- Lucchese, L., Capello, K., Barberio, A., Zuliani, F., Stegeman, A., Ceglie, L., et al. 2015. IFAT and ELISA phase I/phase II as tools for the identification of Q fever chronic milk shedders in cattle. *Vet. Microbiol.* **179**(1–2) : 102–108. doi:10.1016/j.vetmic.2015.02.010. PMID:25769644.
- Luhrmann, A., Nogueira, C.V., Carey, K.L. et Roy, C.R. 2010. Inhibition of pathogen-induced apoptosis by a *Coxiella burnetii* type IV effector protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **107** : 18997–19001. doi:10.1073/pnas.1004380107. PMID:20944063.
- Lyytikäinen, O., Ziese, T., Schwartlander, B., Matzdorff, P., Kuhnhen, C., Jager, C. et Petersen, L. 1998. An outbreak of sheep-associated Q fever in a rural community in Germany. *Eur. J. Epidemiol.* **14** : 193–199. doi:10.1023/A:1007452503863. PMID:9556180.
- Mahamat, A., Edouard, S., Demar, M., Abboud, P., Patrice, J.Y., La Scola, B., et al. 2013. Unique clone of *Coxiella burnetii* causing severe Q fever, French Guiana. *Emerg. Infect. Dis.* **19** : 1102–1104. doi:10.3201/eid1907.130044. PMID:23763958.
- Mallavia, L.P. 1991. Genetics of rickettsiae. *Eur. J. Epidemiol.* **7** : 213–221. doi:10.1007/BF00145669. PMID:1679397.
- Manfredi Selvaggi, T., Rezza, G., Scagnelli, M., Rigoli, R., Rassu, M., De Lalla, F., et al. 1996. Investigation of a Q-fever outbreak in northern Italy. *Eur. J. Epidemiol.* **12** : 403–408. doi:10.1007/BF00145305. PMID:8891546.
- Marenzoni, M.L., Stefanetti, V., Papa, P., Casagrande Proietti, P., Bietta, A., Coletti, M., et al. 2013. Is the horse a reservoir or an indicator of *Coxiella burnetii* infection? Systematic review and biomolecular investigation. *Vet. Microbiol.* **167** : 662–669. doi:10.1016/j.vetmic.2013.09.027. PMID:24144862.
- Marmion, B.P. et Stoker, M.G. 1958. The epidemiology of Q fever in Great Britain; an analysis of the findings and some conclusions. *Br. Med. J.* **2** : 809–816. doi:10.1136/bmj.2.5100.809. PMID:13572912.
- Marmion, B.P., Ormsbee, R.A., Kyrkou, M., Wright, J., Worswick, D.A., Izzo, A.A., et al. 1990. Vaccine prophylaxis of abattoir-associated Q fever: eight years' experience in Australian abattoirs. *Epidemiol. Infect.* **104** : 275–287. doi:10.1017/S0950268800059458. PMID:2323360.
- Marrie, T.J. 1990. Q fever — a review. *Can. Vet. J.* **31** : 555–563. PMID:17423643.
- Maturana, P., Graham, J.G., Sharma, U.M. et Voth, D.E. 2013. Refining the plasmid-encoded type IV secretion system substrate repertoire of *Coxiella burnetii*. *J. Bacteriol.* **195** : 3269–3276. doi:10.1128/JB.00180-13. PMID:23687269.
- Maurin, M. et Raoult, D. 1999. Q fever. *Clin. Microbiol. Rev.* **12** : 518–553. PMID:10515901.
- McCaul, T.F. et Williams, J.C. 1981. Developmental cycle of *Coxiella burnetii*: structure and morphogenesis of vegetative and sporogenic differentiations. *J. Bacteriol.* **147** : 1063–1076. PMID:7275931.
- McDonough, J.A., Newton, H.J., Klum, S., Swiss, R., Agaisse, H. et Roy, C.R. 2013. Host pathways important for *Coxiella burnetii* infection revealed by genome-wide RNA interference screening. *MBio*, **4** : e00606-12. doi:10.1128/mBio.00606-12. PMID:23362322.
- McQuiston, J.H. et Childs, J.E. 2002. Q fever in humans and animals in the United States. *Vector Borne Zoonotic Dis.* **2** : 179–191. doi:10.1089/15303660260613747. PMID:12737547.
- Medic, A., Dzelalija, B., Punda Polic, V., Gjenero Margan, I., Turkovic, B. et Gilic, V. 2005. Q fever epidemic among employees in a factory in the suburb of Zadar, Croatia. *Croat. Med. J.* **46** : 315–319. PMID:15849856.
- Meredith, A.L., Cleaveland, S.C., Denwood, M.J., Brown, J.K. et Shaw, D.J. 2015. *Coxiella burnetii* (Q-Fever) seroprevalence in prey and predators in the United Kingdom: evaluation of infection in wild rodents, foxes and domestic cats using a modified ELISA. *Transbound. Emerg. Dis.* **62**(6) : 639–649. doi:10.1111/tbed.12211. PMID:24479951.
- Michelet, L., Delannoy, S., Devillers, E., Umhang, G., Aspan, A., Juremalm, M., et al. 2014. High-throughput screening of tick-borne pathogens in Europe. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* **4** : 103. doi:10.3389/fcimb.2014.00103. PMID:25120960.
- Million, M. et Raoult, D. 2015. Recent advances in the study of Q fever epidemiology, diagnosis and management. *J. Infect.* **71**(Suppl. 1) : S2–S9. doi:10.1016/j.jinf.2015.04.024. PMID:25917809.
- Million, M., Lepidi, H. et Raoult, D. 2009. [Q fever: current diagnosis and treatment options]. *Med. Mal. Infect.* **39** : 82–94. doi:10.1016/j.medmal.2008.07.008. PMID:19013734.
- Million, M., Roblot, F., Carles, D., D'Amato, F., Protopoulos, C., Carrieri, M.P. et Raoult, D. 2014. Reevaluation of the risk of fetal death and malformation after Q fever. *Clin. Infect. Dis.* **59** : 256–260. doi:10.1093/cid/ciu259. PMID:24748522.
- Molle, G., Hentschke, J. et Laiblin, C. 1995. [Diagnostic measures on the occasion of a Q-fever epidemic in a sheep flock in Berlin]. *Zentralbl. Veterinarmed. B*, **42**: 405–413. PMID:8594853.
- Mollet, C., Drancourt, M. et Raoult, D. 1998. Determination of *Coxiella burnetii* *rpoB* sequence and its use for phylogenetic analysis. *Gene*, **207**: 97–103. doi:10.1016/S0378-1119(97)00618-5. PMID:9511749.
- Mori, M., Boarbi, S., Michel, P., Bakinahe, R., Rits, K., Wattiau, P. et Fretin, D. 2013. In vitro and in vivo infectious potential of *Coxiella burnetii*: a study on Belgian livestock isolates. *PLoS One*, **8** : e67622. doi:10.1371/journal.pone.0067622. PMID:23840751.
- Muskens, J., van Engelen, E., van Maanen, C., Bartels, C. et Lam, T.J. 2011. Prevalence of *Coxiella burnetii* infection in Dutch dairy herds based on testing bulk tank milk and individual samples by PCR and ELISA. *Vet. Rec.* **168** : 79. doi:10.1136/vr.c6106. PMID:21257587.
- Musso, D., Brout, J., Parola, P., Raoult, D. et Fournier, P.E. 2014. Absence of antibodies to *Rickettsia* spp., *Bartonella* spp., *Ehrlichia* spp. and *Coxiella burnetii* in Tahiti, French Polynesia. *BMC Infect. Dis.* **14** : 255. doi:10.1186/1471-2334-14-255. PMID:24885466.
- Naesens, R., Magerman, K., Gyssens, I., Leenders, A., Meekelenkamp, J., Van Esbroeck, M., et al. 2012. Q fever across the Dutch border in Limburg province, Belgium. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **31**(8) : 2053–2055.
- Narasaki, C.T. et Toman, R. 2012. Lipopolysaccharide of *Coxiella burnetii*. *Adv. Exp. Med. Biol.* **984** : 65–90. doi:10.1007/978-94-007-4315-1\_4. PMID:22711627.
- Natale, A., Bucci, G., Capello, K., Barberio, A., Tavella, A., Nardelli, S., et al. 2012. Old and new diagnostic approaches for Q fever diagnosis: correlation among serological (CFT, ELISA) and molecular analyses. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* **35**: 375–379. doi:10.1016/j.cimid.2012.03.002. PMID:22463984.
- Nguyen, S.V. et Hirai, K. 1999. Differentiation of *Coxiella burnetii* isolates by sequence determination and PCR-restriction fragment length polymorphism analysis of isocitrate dehydrogenase gene. *FEMS Microbiol. Lett.* **180** : 249–254. doi:10.1111/j.1574-6968.1999.tb08803.x. PMID:10556719.
- Nielsen, S.Y., Molbak, K., Henriksen, T.B., Kroghfelt, K.A.,

- Larsen, C.S. et Villumsen, S. 2014. Adverse pregnancy outcomes and *Coxiella burnetii* antibodies in pregnant women, Denmark. *Emerg. Infect. Dis.* **20**: 925–931. doi:10.3201/eid2006.130584. PMID:24856281.
- OIE. 2015. Fièvre Q. Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres 2015, Chapitre 2.1.12.
- Omsland, A. et Heinzen, R.A. 2011. Life on the outside: the rescue of *Coxiella burnetii* from its host cell. *Annu. Rev. Microbiol.* **65** : 111–128. doi:10.1146/annurev-micro-090110-102927. PMID:21639786.
- Omsland, A., Cockrell, D.C., Howe, D., Fischer, E.R., Virtaneva, K., Sturdevant, D.E., et al. 2009. Host cell-free growth of the Q fever bacterium *Coxiella burnetii*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **106** : 4430–4434. doi:10.1073/pnas.0812074106. PMID:19246385.
- Ormsbee, R.A., Bell, E.J., Lackman, D.B. et Tallent, G. 1964. The influence of phase on the protective potency of Q fever vaccine. *J. Immunol.* **92** : 404–412. PMID:14128986.
- Palkovicova, K., Ihnatko, R., Vadovic, P., Betinova, E., Skultety, L., Frangoulidis, D. et Toman, R. 2009. A monoclonal antibody specific for a unique biomarker, virenose, in a lipopolysaccharide of *Coxiella burnetii*. *Clin. Microbiol. Infect.* **15**(Suppl. 2) : 183–184. doi:10.1111/j.1469-0691.2008.02218.x. PMID:19438626.
- Panaiotov, S., Ciccozzi, M., Brankova, N., Levterova, V., Mitova-Tiholova, M., Amicosante, M., et al. 2009. An outbreak of Q fever in Bulgaria. *Ann. Ist. Super. Sanita* **45** : 83–86. PMID:19567983.
- Pearson, T., Hornstra, H.M., Sahl, J.W., Schaack, S., Schupp, J.M., Beckstrom-Sternberg, S.M., et al. 2013. When outgroups fail; phylogenomics of rooting the emerging pathogen, *Coxiella burnetii*. *Syst. Biol.* **62** : 752–762. doi:10.1093/sysbio/syt038. PMID:23736103.
- Pearson, T., Hornstra, H.M., Hilsabeck, R., Gates, L.T., Olivas, S.M., Birdsell, D.M., et al. 2014. High prevalence and two dominant host-specific genotypes of *Coxiella burnetii* in U.S. milk. *BMC Microbiol.* **14** : 41. doi:10.1186/1471-2180-14-41. PMID:24533573.
- Pinero, A., Barandika, J.F., Garcia-Perez, A.L. et Hurtado, A. 2015. Genetic diversity and variation over time of *Coxiella burnetii* genotypes in dairy cattle and the farm environment. *Infect. Genet. Evol.* **31** : 231–235. doi:10.1016/j.meegid.2015.02.006. PMID:25684412.
- Porten, K., Rissland, J., Tigges, A., Broll, S., Hopp, W., Lunemann, M., et al. 2006. A super-spreading ewe infects hundreds with Q fever at a farmers' market in Germany. *BMC Infect. Dis.* **6** : 147. doi:10.1186/1471-2334-6-147. PMID:17026751.
- Porter, S.R., Czaplicki, G., Mainil, J., Guatteo, R. et Saegerman, C. 2011. Q fever: current state of knowledge and perspectives of research of a neglected zoonosis. *Int. J. Microbiol.* **2011** : 248418. doi:10.1155/2011/248418. PMID:22194752.
- Promed. 2014. Q fever — Canada: ex Germany, sheep cell therapy, request for information. Disponible au <http://www.promedmail.org>, [http://kvberlin.de/20praxis/80service/87lageso\\_infos/ewb2014\\_2037.pdf](http://kvberlin.de/20praxis/80service/87lageso_infos/ewb2014_2037.pdf).
- Qiu, Y., Nakao, R., Ohnuma, A., Kawamori, F. et Sugimoto, C. 2014. Microbial population analysis of the salivary glands of ticks; a possible strategy for the surveillance of bacterial pathogens. *PLoS One*, **9** : e103961. doi:10.1371/journal.pone.0103961. PMID:25089898.
- Raoult, D., Houpiqian, P., Tissot Dupont, H., Riss, J.M., Arditi-Djiane, J. et Brouqui, P. 1999. Treatment of Q fever endocarditis: comparison of 2 regimens containing doxycycline and ofloxacin or hydroxychloroquine. *Arch. Intern. Med.* **159** : 167–173. doi:10.1001/archinte.159.2.167. PMID:9927100.
- Raoult, D., Tissot-Dupont, H., Foucault, C., Gouvernet, J., Fournier, P.E., Bernit, E., et al. 2000. Q fever 1985-1998. Clinical and epidemiologic features of 1,383 infections. *Medicine* (Baltimore), **79** : 109–123. doi:10.1097/00005792-200003000-00005. PMID:10771709.
- Reusken, C., van der Plaats, R., Opsteegh, M., de Bruin, A. et Swart, A. 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. doi:10.1016/j.prevetmed.2011.05.003. PMID:21640416.
- Rijks, J.M., Roest, H.I., van Tulden, P.W., Kik, M.J. et Grone, A. 2011. *Coxiella burnetii* onfection in roe deer during Q fever epidemic, the Netherlands. *Emerg. Infect. Dis.* **17** : 2369–2371. doi:10.3201/eid1712.110580. PMID:22172398.
- Rodolakis, A. 2009. Q fever in dairy animals. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1166** : 90–93. doi:10.1111/j.1749-6632.2009.04511.x. PMID:19538267.
- Roest, H.-J. 2013. *Coxiella burnetii* in pregnant goats. Thesis.
- Roest, H.I., Ruuls, R.C., Tilburg, J.J., Nabuurs-Franssen, M.H., Klaassen, C.H., Vellema, P., et al. 2011. Molecular epidemiology of *Coxiella burnetii* from ruminants in Q fever outbreak, the Netherlands. *Emerg. Infect. Dis.* **17** : 668–675. doi:10.3201/eid1704.101562. PMID:21470457.
- Roest, H.J., van Gelderen, B., Dinkla, A., Frangoulidis, D., van Zijderveld, F., Rebel, J. et van Keulen, L. 2012. Q fever in pregnant goats: pathogenesis and excretion of *Coxiella burnetii*. *PLoS One*, **7** : e48949. doi:10.1371/journal.pone.0048949. PMID:23152826.
- Roest, H.I., Bossers, A., van Zijderveld, F.G. et Rebel, J.M. 2013a. Clinical microbiology of *Coxiella burnetii* and relevant aspects for the diagnosis and control of the zoonotic disease Q fever. *Vet. Q.* **33** : 148–160. doi:10.1080/01652176.2013.843809. PMID:24161079.
- Roest, H.I., van Solt, C.B., Tilburg, J.J., Klaassen, C.H., Hovius, E.K., Roest, F.T., et al. 2013b. Search for possible additional reservoirs for human Q fever, the Netherlands. *Emerg. Infect. Dis.* **19** : 834–835. doi:10.3201/eid1905.121489. PMID:23697680.
- Rolain, J.M., Lambert, F. et Raoult, D. 2005. Activity of telithromycin against thirteen new isolates of *C. burnetii* including three resistant to doxycycline. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1063** : 252–256. doi:10.1196/annals.1355.039. PMID:16481522.
- Rouli, L., Rolain, J.M., El Filali, A., Robert, C. et Raoult, D. 2012. Genome sequence of *Coxiella burnetii* 109, a doxycycline-resistant clinical isolate. *J. Bacteriol.* **194** : 6939. doi:10.1128/JB.01856-12. PMID:23209205.
- Rousset, E., Arricau Bouvery, N., Souriau, A., Huard, C., Rodolakis, A., Pepin, M. et Aubert, M. 2003. Les modalités de transmission de la fièvre Q à l'homme. *Bulletin Épidémiologique, AFSSA No. 7*, pp. 1–3. Disponible au [http://www.inma.fr/files/piece\\_jointe/fr/122.pdf](http://www.inma.fr/files/piece_jointe/fr/122.pdf).
- Rousset, É., Duquesne V., Russo, P. et Thiéry, R. 2007. La fièvre Q : problématiques et risques sanitaires. *Bull. Acad. Vét. France* Tome 160, 107. Disponible au [http://documents.irevues.inist.fr/bitstream/handle/2042/47874/AVF\\_2007\\_2\\_107.pdf?sequence=1](http://documents.irevues.inist.fr/bitstream/handle/2042/47874/AVF_2007_2_107.pdf?sequence=1).
- Rousset, E., Durand, B., Champion, J.L., Prigent, M., Dufour, P., Forfait, C., et al. 2009. Efficiency of a phase 1 vaccine for the reduction of vaginal *Coxiella burnetii* shedding in a clinically affected goat herd. *Clin. Microbiol. Infect.* **15**(Suppl. 2) : 188–189. doi:10.1111/j.1469-0691.2008.02220.x. PMID:19793119.
- Ruiz-Fons, F., Gonzalez-Barrio, D., Aguilar-Rios, F., Soler, A.J., Garde, J.J., Gortazar, C. et Fernandez-Santos, M.D. 2014. Infectious pathogens potentially transmitted by semen of the black variety of the Manchega sheep breed: Health constraints for conservation purposes. *Anim. Reprod. Sci.* **149**(3–4) : 152–157. doi:10.1016/j.anireprosci.2014.07.006. PMID:25066603.
- Russell-Lodrigue, K.E., Zhang, G.Q., McMurray, D.N. et Samuel, J.E. 2006. Clinical and pathologic changes in a guinea pig aerosol challenge model of acute Q fever. *Infect. Immun.* **74** : 6085–6091. doi:10.1128/IAI.00763-06. PMID:17057087.

- Rustscheff, S., Norlander, L., Macellaro, A., Sjostedt, A., Vene, S. et Carlsson, M. 2000. A case of Q fever acquired in Sweden and isolation of the probable ethiological agent, *Coxiella burnetii* from an indigenous source. *Scand. J. Infect. Dis.* **32** : 605–607. doi:10.1080/003655400459496. PMID:11200368.
- Saegerman, C., Speybroeck, N., Dal Pozzo, F. et Czaplicki, G. 2013. Clinical indicators of exposure to *Coxiella burnetii* in dairy herds. *Transbound. Emerg. Dis.* **62**(1) : 46–54. doi:10.1111/tbed.12070. PMID:23480126.
- Samuel, J.E., Frazier, M.E. et Mallavia, L.P. 1985. Correlation of plasmid type and disease caused by *Coxiella burnetii*. *Infect. Immun.* **49** : 775–779. PMID:4030104.
- Santoro, D., Giura, R., Colombo, M.C., Antonelli, P., Gramigna, M., Gandola, O. et Gridavilla, G. 2004. Q fever in Como, Northern Italy. *Emerg. Infect. Dis.* **10** : 159–160. doi:10.3201/eid1001.030467. PMID:15112652.
- Santos, A.S., Tilburg, J.J., Botelho, A., Barahona, M.J., Nuncio, M.S., Nabuurs-Franssen, M.H. et Klaassen, C.H. 2012. Genotypic diversity of clinical *Coxiella burnetii* isolates from Portugal based on MST and MLVA typing. *Int. J. Med. Microbiol.* **302** : 253–256. doi:10.1016/j.ijmm.2012.08.003. PMID:23040417.
- Schimmer, B., Morroy, G., Dijkstra, F., Schneeberger, P.M., Weers-Pothoff, G., Timen, A., et al. 2008. Large ongoing Q fever outbreak in the south of the Netherlands, 2008. *Euro Surveill.* **13**. PMID:18761906.
- Schimmer, B., Ter Schegget, R., Wegdam, M., Zuchner, L., de Bruin, A., Schneeberger, P.M., et al. 2010. The use of a geographic information system to identify a dairy goat farm as the most likely source of an urban Q-fever outbreak. *BMC Infect. Dis.* **10** : 69. doi:10.1186/1471-2334-10-69. PMID:20230650.
- Schimmer, B., Luttikholt, S., Hautvast, J.L., Graat, E.A., Vellema, P. et Duynhoven, Y.T. 2011. Seroprevalence and risk factors of Q fever in goats on commercial dairy goat farms in the Netherlands, 2009–2010. *BMC Vet. Res.* **7** : 81. doi:10.1186/1746-6148-7-81. PMID:22208798.
- Schimmer, B., Notermans, D.W., Harms, M.G., Reimerink, J.H., Bakker, J., Schneeberger, P., et al. 2012. Low seroprevalence of Q fever in the Netherlands prior to a series of large outbreaks. *Epidemiol. Infect.* **140** : 27–35. doi:10.1017/S0950268811000136. PMID:21324217.
- Schneider, T., Jahn, H.U., Steinhoff, D., Guschoreck, H.M., Liesenfeld, O., Mater-Bohm, H., et al., 1993. [A Q fever epidemic in Berlin. The epidemiological and clinical aspects]. *Dtsch. Med. Wochenschr.* **118** : 689–695. doi:10.1055/s-2008-1059379. PMID:8500412.
- Schulze, K., Schwalen, A., Klein, R.M., Thomas, L., Leschke, M. et Strauer, B.E. 1996. [A Q-fever pneumonia epidemic in Dusseldorf]. *Pneumologie*, **50** : 469–473. PMID:8927605.
- Sekeyova, Z., Roux, V. et Raoult, D. 1999. Intraspecies diversity of *Coxiella burnetii* as revealed by *com1* and *mucZ* sequence comparison. *FEMS Microbiol. Lett.* **180** : 61–67. doi:10.1111/j.1574-6968.1999.tb08778.x. PMID:10547445.
- Serbezov, V.S., Kazar, J., Novkirishki, V., Gatcheva, N., Kovacova, E. et Voynova, V. 1999. Q fever in Bulgaria and Slovakia. *Emerg. Infect. Dis.* **5** : 388–394. doi:10.3201/eid0503.990309. PMID:10341175.
- Seshadri, R., Paulsen, I.T., Eisen, J.A., Read, T.D., Nelson, K.E., Nelson, W.C., et al. 2003. Complete genome sequence of the Q-fever pathogen *Coxiella burnetii*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **100** : 5455–5460. doi:10.1073/pnas.0931379100. PMID:12704232.
- Sidi-Boumedine, K. et Rousset, E. 2011. Molecular epidemiology of Q fever: a review of *Coxiella burnetii* genotyping methods and main achievements. *EuroReference*, No. **5**, 30–37.
- Sidi-Boumedine, K., Rousset, E., Henning, K., Ziller, M., Niemczuck, K., Roest, H.I.J. et Thiéry, R. 2010. Development of harmonised schemes for the monitoring and reporting of Q-fever in animals in the European Union. *EFSA Journal Scientific Report on Question No EFSA-Q-2009-00511*.
- Sidi-Boumedine, K., Ellis, R.J., Adam, G., Prigent, M., Angen, O., Aspan, A., et al. 2014. Draft genome sequences of six ruminant *Coxiella burnetii* isolates of European origin. *Genome Announc.* **2** : e00285–14. doi:10.1128/genomeA.00285-14. PMID:24831135.
- Signs, K.A., Stobierski, M.G. et Gandhi, T.N. 2012. Q fever cluster among raw milk drinkers in Michigan, 2011. *Clin. Infect. Dis.* **55** : 1387–1389. doi:10.1093/cid/cis690. PMID:22893578.
- Socolovschi, C., Reynaud, P., Kernif, T., Raoult, D. et Parola, P. 2012. Rickettsiae of spotted fever group, *Borrelia valaisiana*, and *Coxiella burnetii* in ticks on passerine birds and mammals from the Camargue in the south of France. *Ticks Tick Borne Dis.* **3** : 355–360. doi:10.1016/j.ttbdis.2012.10.019. PMID:23141104.
- Sprong, H., Tijssse-Klasen, E., Langelaar, M., De Bruin, A., Fonville, M., Gassner, F., et al. 2012. Prevalence of *Coxiella burnetii* in ticks after a large outbreak of Q fever. *Zoonoses Public Health*, **59** : 69–75. doi:10.1111/j.1863-2378.2011.01421.x. PMID:21824373.
- Starnini, G., Caccamo, F., Farchi, F., Babudieri, S., Brunetti, B. et Rezza, G. 2005. An outbreak of Q fever in a prison in Italy. *Epidemiol. Infect.* **133** : 377–380. doi:10.1017/S0950268804003383. PMID:15816166.
- Stein, A., Saunders, N.A., Taylor, A.G. et Raoult, D. 1993. Phylogenetic homogeneity of *Coxiella burnetii* strains as determined by 16S ribosomal RNA sequencing. *FEMS Microbiol. Lett.* **113** : 339–344. doi:10.1111/j.1574-6968.1993.tb06537.x. PMID:7505761.
- Stein, A., Louveau, C., Lepidi, H., Ricci, F., Baylac, P., Davoust, B. et Raoult, D. 2005. Q fever pneumonia: virulence of *Coxiella burnetii* pathogens in a murine model of aerosol infection. *Infect. Immun.* **73**: 2469–2477. doi:10.1128/JAI.73.4.2469-2477.2005. PMID:15784593.
- Sting, R., Molz, K., Philipp, W., Bothe, F., Runge, M. et Ganter, M. 2013. Quantitative real-time PCR and phase specific serology are mutually supportive in Q fever diagnostics in goats. *Vet. Microbiol.* **167** : 600–608. doi:10.1016/j.vetmic.2013.09.015. PMID:24095624.
- Strauss, B., Loschau, M., Seidel, T., Stallmach, A. et Thomas, A. 2012. Are fatigue symptoms and chronic fatigue syndrome following Q fever infection related to psychosocial variables? *J. Psychosom. Res.* **72** : 300–304. doi:10.1016/j.jpsychores.2012.01.010. PMID:22405225.
- Sulyok, K.M., Kreizinger, Z., Hornstra, H.M., Pearson, T., Szigeti, A., Dan, A., et al. 2014. Genotyping of *Coxiella burnetii* from domestic ruminants and human in Hungary: indication of various genotypes. *BMC Vet. Res.* **10** : 107. doi:10.1186/1746-6148-10-107. PMID:24885415.
- Svraka, S., Toman, R., Skultety, L., Slaba, K. et Homan, W.L. 2006. Establishment of a genotyping scheme for *Coxiella burnetii*. *FEMS Microbiol. Lett.* **254** : 268–274. doi:10.1111/j.1574-6968.2005.00036.x. PMID:16445755.
- Tan, C.K. et Owens, L. 2000. Infectivity, transmission and 16S rRNA sequencing of a rickettsia, *Coxiella cheraxi* sp. nov., from the freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Dis. Aquat. Organ.* **41** : 115–122. doi:10.3354/dao041115. PMID:10918979.
- Tatsumi, N., Baumgartner, A., Qiao, Y., Yamamoto, I. et Yamaguchi, K. 2006. Detection of *Coxiella burnetii* in market chicken eggs and mayonnaise. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1078** : 502–505. doi:10.1196/annals.1374.096. PMID:17114764.
- Thiele, D. et Willems, H. 1994. Is plasmid based differentiation of *Coxiella burnetii* in 'acute' and 'chronic' isolates still valid? *Eur. J. Epidemiol.* **10** : 427–434. doi:10.1007/BF01719667. PMID:7843346.
- Thiele, D., Willems, H., Haas, M. et Krauss, H. 1994. Analysis of the entire nucleotide sequence of the cryptic plasmid QpH1 from *Coxiella burnetii*. *Eur. J. Epidemiol.* **10** : 413–420. doi:10.1007/BF01719665. PMID:7843345.
- Thompson, C.C., Chimetto, L., Edwards, R.A., Swings, J.,

- Stackebrandt, E. et Thompson, F.L. 2013. Microbial genomic taxonomy. *BMC Genomics*, **14**: 913. doi:10.1186/1471-2164-14-913. PMID:24365132.
- Thompson, H.A., Hoover, T.A., Vodkin, M.H. et Shaw, E.I. 2003. Do chromosomal deletions in the lipopolysaccharide biosynthetic regions explain all cases of phase variation in *Coxiella burnetii* strains? An update. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **990** : 664–670. doi:10.1111/j.1749-6632.2003.tb07441.x. PMID:12860704.
- Tigertt, W.D., Benenson, A.S. et Gochenour, W.S. 1961. Airborne Q fever. *Bacteriol. Rev.* **25**: 285–293. PMID:13921201.
- Tilburg, J.J., Roest, H.J., Nabuurs-Franssen, M.H., Horrevorts, A.M. et Klaassen, C.H. 2012. Genotyping reveals the presence of a predominant genotype of *Coxiella burnetii* in consumer milk products. *J. Clin. Microbiol.* **50**: 2156–2158. doi:10.1128/JCM.06831-11. PMID:22495560.
- Tissot-Dupont, H., Raoult, D., Brouqui, P., Janbon, F., Peyramond, D., Weiller, P.J., et al. 1992. Epidemiologic features and clinical presentation of acute Q fever in hospitalized patients: 323 French cases. *Am. J. Med.* **93** : 427–434. doi:10.1016/0002-9343(92)90173-9. PMID:1415306.
- Tissot-Dupont, H., Amadei, M.A., Nezri, M. et Raoult, D. 2004. Wind in November, Q fever in December. *Emerg. Infect. Dis.* **10** : 1264–1269. doi:10.3201/eid1007.030724. PMID:15324547.
- Toman, R. et Skultety, L. 1994. Analysis of the 3-deoxy-D-manno-2-octulosonic acid region in a lipopolysaccharide isolated from *Coxiella burnetii* strain Nine Mile in phase II. *Acta Virol.* **38** : 241–243. PMID:7879717.
- Valergakis, G.E., Russell, C., Grogono-Thomas, R., Bradley, A.J. et Eisler, M.C. 2012. *Coxiella burnetii* in bulk tank milk of dairy cattle in south-west England. *Vet. Rec.* **171** : 156, 151-152. doi:10.1136/vr.100908. PMID:843608.
- van den Brom, R., van Engelen, E., Luttikholt, S., Moll, L., van Maanen, K. et Vellema, P. 2012. *Coxiella burnetii* in bulk tank milk samples from dairy goat and dairy sheep farms in the Netherlands in 2008. *Vet. Rec.* **170** : 310. doi:10.1136/vr.100304. PMID:22351793.
- van den Brom, R., Roest, H.J., de Bruin, A., Dercksen, D., Santman-Berends, I., van der Hoek, W., et al. 2015. A probably minor role for land-applied goat manure in the transmission of *Coxiella burnetii* to humans in the 2007-2010 Dutch Q fever outbreak. *PLoS One*, **10** : e0121355. doi:10.1371/journal.pone.0121355. PMID:25816149.
- Vanderburg, S., Rubach, M.P., Halliday, J.E., Cleaveland, S., Reddy, E.A. et Crump, J.A. 2014. Epidemiology of *Coxiella burnetii* infection in Africa: a OneHealth systematic review. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **8** : e2787. doi:10.1371/journal.pntd.0002787. PMID:24722554.
- van der Hoek, W., Hunink, J., Vellema, P. et Droogers, P. 2011a. Q fever in the Netherlands: the role of local environmental conditions. *Int. J. Environ. Health Res.* **21** : 441–451. doi:10.1080/09603123.2011.574270. PMID:21563011.
- van der Hoek, W., Meekelenkamp, J.C., Leenders, A.C., Wijers, N., Notermans, D.W. et Hukkelhoven, C.W. 2011b. Antibodies against *Coxiella burnetii* and pregnancy outcome during the 2007-2008 Q fever outbreaks in the Netherlands. *BMC Infect. Dis.* **11**: 44. doi:10.1186/1471-2334-11-44. PMID:21314933.
- van der Hoek, W., Schneeberger, P.M., Oomen, T., Wegdam-Blans, M.C., Dijkstra, F., Notermans, D.W., 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. PMID:22297101.
- van Loenhout, J.A., Paget, W.J., Vercoulen, J.H., Wijkmans, C.J., Hautvast, J.L. et van der Velden, K. 2012. Assessing the long-term health impact of Q-fever in the Netherlands: a prospective cohort study started in 2007 on the largest documented Q-fever outbreak to date. *BMC Infect. Dis.* **12** : 280. doi:10.1186/1471-2334-12-280. PMID:23110336.
- van Schaik, E.J., Chen, C., Mertens, K., Weber, M.M. et Samuel, J.E. 2013. Molecular pathogenesis of the obligate intracellular bacterium *Coxiella burnetii*. *Nat. Rev. Microbiol.* **11** : 561–573. doi:10.1038/nrmicro3049. PMID:23797173.
- van Woerden, H.C., Mason, B.W., Nehaul, L.K., Smith, R., Salmon, R.L., Healy, B., et al. 2004. Q fever outbreak in industrial setting. *Emerg. Infect. Dis.* **10** : 1282–1289. doi:10.3201/eid1007.030536. PMID:15324550.
- Vicari, N., Faccini, S., Ricchi, M., Garbarino, C., Decastelli, L., Boldini, M., et al. 2013. Occurrence of *Coxiella burnetii* in bulk tank milk from northwestern Italy. *Vet. Rec.* **172**: 687. doi:10.1136/vr.101423. PMID:23709093.
- Vishwanath, S. et Hackstadt, T. 1988. Lipopolysaccharide phase variation determines the complement-mediated serum susceptibility of *Coxiella burnetii*. *Infect. Immun.* **56** : 40–44. PMID:3335408.
- Voth, D.E., Beare, P.A., Howe, D., Sharma, U.M., Samoilis, G., Cockrell, D.C., et al. 2011. The *Coxiella burnetii* cryptic plasmid is enriched in genes encoding type IV secretion system substrates. *J. Bacteriol.* **193** : 1493–1503. doi:10.1128/JB.01359-10. PMID:21216993.
- Waag, D.M., England, M.J., Tammariello, R.F., Byrne, W.R., Gibbs, P., Banfield, C.M. et Pitt, M.L. 2002. Comparative efficacy and immunogenicity of Q fever chloroform:methanol residue (CMR) and phase I cellular (Q-Vax) vaccines in cynomolgus monkeys challenged by aerosol. *Vaccine*, **20** : 2623–2634. doi:10.1016/S0264-410X(02)00176-7. PMID:12057622.
- Walter, M.C., Ohrman, C., Myrtennas, K., Sjodin, A., Bystrom, M., Larsson, P., et al. 2014a. Genome sequence of *Coxiella burnetii* strain Namibia. *Stand Genomic Sci.* **9** : 22. doi:10.1186/1944-3277-9-22. PMID:25593636.
- Walter, M.C., Vincent, G.A., Stenos, J., Graves, S. et Frangoulidis, D. 2014b. Genome sequence of *Coxiella burnetii* strain AuQ01 (Arandale) from an Australian patient with acute Q fever. *Genome Announc.* **2**. doi:10.1128/genomeA.00964-14. PMID:25278528.
- Welsh, H.H., Lennette, E.H., Abinanti, F.R., Winn, J.F. et Kaplan, W. 1959. Q fever studies. XXI. The recovery of *Coxiella burnetii* from the soil and surface water of premises harboring infected sheep. *Am. J. Hyg.* **70** : 14–20. PMID:13670163.
- Wentworth, B.B. 1955. Historical review of the literature on Q fever. *Bacteriol. Rev.* **19** : 129–149. PMID:13260098.
- Whitney, E.A., Massung, R.F., Candee, A.J., Ailes, E.C., Myers, L.M., Patterson, N.E. et Berkelman, R.L. 2009. Seroepidemiologic and occupational risk survey for *Coxiella burnetii* antibodies among US veterinarians. *Clin. Infect. Dis.* **48** : 550–557. doi:10.1086/596705. PMID:19191638.
- Willems, H., Ritter, M., Jager, C. et Thiele, D. 1997. Plasmid-homologous sequences in the chromosome of plasmidless *Coxiella burnetii* Scurry Q217. *J. Bacteriol.* **179** : 3293–3297. PMID:9150226.
- Wilson, L.E., Couper, S., Prempeh, H., Young, D., Pollock, K.G., Stewart, W.C., et al. 2009. Investigation of a Q fever outbreak in a Scottish co-located slaughterhouse and cutting plant. *Zoonoses Public Health*, **57** : 493–498. doi:10.1111/j.1863-2378.2009.01251.x. PMID:19912614.
- Zhang, G.Q., To, H., Yamaguchi, T., Fukushi, H. et Hirai, K. 1997. Differentiation of *Coxiella burnetii* by sequence analysis of the gene (*com1*) encoding a 27-kDa outer membrane protein. *Microbiol. Immunol.* **41** : 871–877. doi:10.1111/j.1348-0421.1997.tb01943.x. PMID:9444329.
- Zhang, G., Russell-Lodrigue, K.E., Andoh, M., Zhang, Y., Hendrix, L.R. et Samuel, J.E. 2007. Mechanisms of vaccine-induced protective immunity against *Coxiella burnetii* infection in BALB/c mice. *J. Immunol.* **179** : 8372–8380. doi:10.4049/jimmunol.179.12.8372. PMID:18056383.

**This article has been cited by:**

1. Mohammed H. Benaissa, Samir Ansel, Abdallah Mohamed-Cherif, Karima Benfodil, Djamel Khelef, Curtis R. Youngs, Rachid Kaidi, Khatima Ait-Oudhia. 2017. Seroprevalence and risk factors for *Coxiella burnetii*, the causative agent of Q fever in the dromedary camel (*Camelus dromedarius*) population in Algeria. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* **84**:1. . [[Crossref](#)]