



Rijksinstituut voor Volksgezondheid
en Milieu
*Ministerie van Volksgezondheid,
Welzijn en Sport*

**Orale blootstelling van proefdieren aan
*Coxiella burnetii***
Literatuuronderzoek

Briefrapport 330291004/2010
P.L. Geenen | B. van Rotterdam | A.W. van de Giessen



Rijksinstituut voor Volksgezondheid
en Milieu
*Ministerie van Volksgezondheid,
Welzijn en Sport*

Orale blootstelling van proefdieren aan *Coxiella burnetii*

Literatuuronderzoek

Briefrapport 330291004/2010

P.L. Geenen, B. van Rotterdam, A.W. van de Giessen

Contact:
Dr. Ir. P.L. Geenen
Laboratorium voor Zoönosen en Omgevingsmicrobiologie,
Centrum Infectieziektebestrijding, RIVM
Tel. Nr. 030 2744750
e-mail: petra.geenen@rivm.nl

Dit onderzoek is uitgevoerd door LZO-Dier&Vector van het CIB-RIVM in opdracht van de nieuwe Voedsel en Waren Autoriteit, op basis van kennisvraag nr. 9.2.3 D, in het kader van project V/330291/01/CO.

1 Aanleiding en vraagstelling

In het advies 'Risico's van *Coxiella burnetii* in melk en melkproducten van schapen en geiten' van Bureau Risicoboordeling en Onderzoeksprogrammering van de nieuwe Voedsel en Waren Autoriteit (nVWA) staat vermeld: 'Het ziekteverwekkend vermogen van *C. burnetii* is wel bij dieren onderzocht. Maar voor zover bekend is de verwekker nooit oraal toegediend bij een voor Q-koorts gevoelige diersoort'. Aan het RIVM is gevraagd om een korte deskstudie uit te voeren of orale blootstelling van proefdieren inderdaad nooit heeft plaatsgevonden.

2 Aanpak

Om de vraag te beantwoorden is er literatuuronderzoek verricht en zijn enkele reviews en rapporten gescreend op relevante referenties (zie Bijlage I). Daarnaast is er via e-mail navraag gedaan of dergelijke experimenten hebben plaatsgevonden bij de volgende Q-koorts onderzoeksgroepen:

Centraal Veterinair Instituut (CVI) - Hendrik-Jan Roest
Gezondheidsdienst voor Dieren (GD) - Piet Vellema
Centers for Disease Control and Prevention (CDC) - Robert Massung
Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) - Annie Rodolakis
Agence Nationale de Sécurité Sanitaire (ANSES) - Elodie Rousset

3 Resultaten

Er zijn in totaal negen artikelen gevonden (vijf in het literatuuronderzoek, drie gevonden bij het screenen van artikelen, reviews en rapporten en één met behulp van een expert) waarin sprake is van orale blootstelling van proefdieren. Van zes artikelen is een abstract beschikbaar (zie bijlage II).

Literatuuronderzoek met behulp van de bibliografische databases Scopus en PubMed

Drie artikelen zijn afkomstig uit Slowakije waar door Reháček et al. in de periode 1968-1992 uit het wild afkomstige dieren (hazen, rosse woelmuizen en grote bosmuizen) en laboratoriummuizen oraal werden blootgesteld aan *C. burnetii* (Reháček et al., 1968; Reháček et al., 1992; Reháček et al., 1978). Doelstelling was het onderzoeken van de mogelijke transmissie van *C. burnetii* door deze dieren. De experimenten waren vrij kleinschalig en er is afhankelijk van de studie gekeken naar serologie, de aanwezigheid van *C. burnetii* in de milt, en uitscheiding via mest en urine. *C. burnetii* werd bij de hazen teruggevonden in het bloed (1/3, gedurende één dag), in de nieren (1/3) en in de milt (1/3) (Reháček et al., 1978). De hazen vertoonden geen waarneembare ziekteverschijnselen, maar vormden wel antilichamen. *C. burnetii* werd gedetecteerd in de milt van rosse woelmuizen (5/6), grote bosmuizen (8/8) en witte muizen (2/5) na het toedienen van besmet water (Reháček et al., 1968). Vijf muizen en drie grote bosmuizen werden in deze studie ook besmet door het eten van besmet voedsel; hierbij werd *C. burnetii* niet teruggevonden in de milt van de muizen, maar wel bij één (uit drie) grote bosmuizen (Reháček et al., 1968). Er wordt niet vermeld of de dieren ziekteverschijnselen vertoonden, wel werden verhoogde antilichaam-titers gevonden. Bij witte muizen en huismuizen werden ook antilichamen gevonden na orale besmetting (Reháček et al., 1992), maar onduidelijk is bij hoeveel dieren. De algemene conclusie uit de studies van Reháček et al. is dat de onderzochte wilde (knaag)dieren een reservoir vormen voor *C. burnetii*.

In het onderzoek van Schaal (Schaal, 1974) werden 25 cavia's ingedeeld in vijf groepen en vijf tot tien dagen lang gevoerd met melk besmet met verschillende hoeveelheden *C. burnetii* en met of zonder extra behandeling. Twee groepen kregen een hogere dosis zonder additionele behandeling, drie groepen kregen een lagere dosis met een stress veroorzakende additionele behandeling 1) prednisolon, 2) mechanische of 3) chemische prikkeling van het maag-darm slijmvlies. Acht cavia's hadden een positieve serologie, zes uit de groepen met een hogere dosis *C. burnetii* zonder additionele behandeling en 2 uit de met prednisolon behandelde groep. Bij vijf van de acht dieren met een positieve serologie werd *C. burnetii* aangetoond in de organen, waarvan één met prednisolon behandelde cavia. Er worden geen details gegeven over welke organen zijn onderzocht, wel wordt er genoemd dat *C. burnetii* is aangetoond in de milt en testikels. Er wordt niet duidelijk vermeld of er ziekteverschijnselen waren bij de cavia's, wel wordt een geringe gewichtsafname gezien in de groepen zonder additionele behandeling en een hogere gewichtsafname bij de groepen met additionele behandeling. Schaal concludeert dat *C. burnetii* de maag/darm kan passeren en organen kan koloniseren bij cavia's en dat orale infectie afhankelijk is van de dosis, virulentie van de stam en de immunologische afweer van het dier.

Tenslotte heeft Durand muizen oraal en intraperitoneaal blootgesteld aan besmette melk (Durand, 1993). Op basis van de berekende minimale infectieuze dosis voor muizen blijkt de intraperitoneale route vele malen (factor 10^4) effectiever dan de orale route. De abstracts van bovengenoemde artikelen staan in Bijlage II.

Screenen van artikelen, reviews en rapporten

In een zeer recent artikel over de detectie van *Coxiella burnetii* in commercieel verkrijgbare rauwe melk in de Verenigde Staten (Loftis et al., 2010) worden vier studies genoemd waarbij dieren oraal zijn blootgesteld aan *C. burnetii*, waaronder de hierboven beschreven studie van Reháček et al. (1968). Het betreft verder een studie uit 1949 waarin twee ongespeende kalveren (drie weken en drie maanden oud) werden gevoed met melk gecontamineerd met *C. burnetii* (Parker et al., 1949). Bij beide kalveren werd op enkele dagen *C. burnetii* aangetoond in feces en bloed. Op dag 13 werd het drie maanden oude kalf koortsig. Het eventuele verdere ziekteverloop is niet gevolgd; op dag 14 werd het dier geëuthanaseerd en werden alleen de prescapulaire lymfeknoop en leibmaag positief bevonden. Het drie weken oude kalf vertoonde geen ziekteverschijnselen. Verder wordt er verwezen naar Derrick (1937), gelezen als herdruk (Derrick, 1983). In deze studie zijn verschillende transmissieroutes onderzocht bij cavia's, waaronder orale blootstelling van vier cavia's aan geïnfecteerde levers. Slechts één van de vier cavia's had een immuunrespons, maar vertoonde geen ziekteverschijnselen. Tenslotte wordt verwezen naar Babudieri (1959). In dit overzichtsartikel worden drie studies genoemd waarbij dieren oraal zijn blootgesteld aan *C. burnetii*, één met honden (Antonetti, 1952), één met cavia's (Babudieri and Moscovici, 1955) en één ongepubliceerde studie met kalveren. De eerste twee studies zijn gepubliceerd in het Italiaans en dus niet gelezen door de onderzoekers. Er wordt over deze studies vermeld dat het niet gemakkelijk blijkt om dieren oraal te infecteren en dat er een hoge infectieuze dosis voor nodig is. Over de studie met kalveren wordt vermeld dat 75 kalveren van serum negatieve koeien werden blootgesteld aan geïnfecteerde melk, maar dat dit bij geen van de dieren leidde tot infectie. Van deze studies is geen abstract beschikbaar.

Literatuur verkregen van experts

Het artikel van Kruszewska en Tylewska-Wierzbanowska (1992) is geschreven in het Pools en is daarom niet gelezen door de onderzoekers, maar heeft wel een Engels abstract (zie Bijlage II). Uit het abstract blijkt dat het experimenten betreft waarbij muizen intranasaal, oraal, intraperitoneaal en intravaginaal zijn geïnfecteerd. Onafhankelijk van de infectieroute werd *C. burnetii* teruggevonden in de lever, milt, testikels, prostaat en spermatozoa van de muizen. *C. burnetii* werd gedurende 18 dagen gedetecteerd in de organen en gedurende 7 dagen in het bloed, terwijl de bacterie pas 14 dagen na infectie werd aangetoond in de urine. Er wordt dan ook geconcludeerd dat ongeacht de locatie van bacteriële penetratie het verloop van de infectie van *C. burnetii* in muizen op vergelijkbare wijze verloopt. In het abstract wordt niet vermeld of de muizen ziekteverschijnselen vertoonden. In (Marrie, 1990) wordt gesproken over een publicatie uit 1948 waarbij één vaars is blootgesteld aan besmet voer, zonder resultaat (Parker et al., 1948).

Navraag onderzoeksgroepen

- CVI - Hendrik-Jan Roest

Op het CVI is er recentelijk een pilot-onderzoek verricht waarbij 70-dagen-drachtige geiten oraal en nasaal geïnfecteerd werden met

verschillende doses *C. burnetii* met als controlegroep subcutaan geïnfecteerde dieren. Abortus en uitscheiding waren de uitleesparameters. De nasale route bleek veel effectiever in vergelijking met de orale route. De orale infectie sloeg eigenlijk niet aan, de nasale en subcutaan geïnfecteerde dieren gaven wel abortus te zien. De infectiedosis maakte ook een klein verschil. Verdere experimenten starten binnenkort.

- CDC (USA) - Robert Massung

Dr. Massung geeft aan dat op het CDC dergelijke experimenten niet zijn uitgevoerd. Wel geeft hij referenties van drie artikelen die dergelijk onderzoek beschrijven, waarvan één (Kruszewska and Tylewska-Wierzbanska, 1992) niet was gevonden in het literatuuronderzoek.

- INRA (Frankrijk) - Annie Rodolakis

Dr. Rodolakis geeft aan dat bij het INRA geen experimenten zijn uitgevoerd met orale blootstelling van proefdieren.

- ANSES (Frankrijk) - Elodie Rousset

Ook bij het ANSES zijn dergelijke experimenten niet uitgevoerd en Dr. Rousset geeft aan dat er nog veel kennis op het gebied van orale routes vs. andere transmissieroutes ontbreekt. Ze geeft nog enkele referenties met betrekking tot het onderwerp van orale blootstelling. In (Marrie, 1990) wordt verwezen naar (Parker et al., 1948).

4 Conclusie

De aanvullende informatie die is gevonden over orale blootstelling van proefdieren leidt tot de volgende conclusies:

- Orale toediening leidde bij proefdieren tot de vorming van antilichamen, maar er zijn geen aanwijzingen gevonden dat orale toediening leidde tot waarneembare ziekteverschijnselen als gevolg van een infectie met *C. burnetii*.
- In enkele studies is *C. burnetii* na orale toediening teruggevonden in de organen, bloed en urine van proefdieren.
- Orale blootstelling lijkt in vergelijking met de nasale, intraperitoneale en subcutane route niet erg effectief.
- Het aantal studies met betrekking tot orale blootstelling van proefdieren is zeer beperkt.
- Deze aanvullende conclusies geven geen aanleiding tot een andere risicoclassificatie dan in het advies van Bureau Risicobeoordeling en Onderzoeksprogrammering van de nVWA.

Referenties

- Antonetti. (1952) Ricerche sperimentali sulla rickettsiosi burnetii del cane. *Zooprofilassi* 7:249-254.
- Babudieri. (1959) Q fever: a zoonosis. *Adv Vet Sci* 5:81-182.
- Babudieri B., Moscovici C. (1955) Infezione sperimentale da *Coxiella burnetii* (Philip) per via alimentare e per via transcongiuntivale. *Rend. ist. super. sanita* 18:65-69.
- Cerf O., Condrón R. (2006) *Coxiella burnetii* and milk pasteurization: An early application of the precautionary principle? *Epidemiology and Infection* 134:946-951.
- Derrick E.H. (1983) "Q" fever, a new fever entity: clinical features, diagnosis and laboratory investigation. *Reviews of Infectious Diseases* 5:790-800.
- Durand M.P. (1993) Lactéal and placental excretion of *Coxiella burnetii*, agent of Q fever, in the cow. Importance and prevention. L'excrétion lactée et placentaire de *Coxiella burnetii*, agent de la fièvre Q, chez la vache. Importance et prévention. 177:935-945; discussion 945.
- EFSA. (2010) Scientific opinion on q fever. EFSA journal, available online www.efsa.europa.eu 8.
- Hart R.J.C. (1973) The epidemiology of Q fever. *Postgraduate Medical Journal* 49:535-538.
- Kruszewska D., Tylewska-Wierzbanska S. (1992) Dependence between penetration route and course of infection with *Coxiella burnetii* in mice. Zależność między drogą wniknięcia a przebiegiem zakażenia *Coxiella burnetii* u myszy. 44:145-152.
- Loftis A., Priestley R., Massung R. (2010) Detection of *Coxiella burnetii* in Commercially Available Raw Milk from the United States. *Foodborne Pathog Dis.* 2010 Aug 12. [Epub ahead of print]
- Marmion B.P. (1959) Q fever: recent developments and some unsolved problems. *Proceedings of the Royal Society of Medicine* 52:613-616.
- Marrie T. (1990) Q fever - A review. *Can Vet J* 31:555-563.
- Parker R.R., Bell E.J., Lackman D.B. (1948) Experimental studies of q fever in cattle: I. Observations on four heifers and two milk cows. *American Journal of Epidemiology* 48:191-206.
- Parker R.R., Bell E.J., Stoenner H.G. (1949) Q fever - a brief survey of the problem. *Journal of the american veterinary medical association* 114:124-130.
- Reháček J., Ac P., Brezina R. (1968) Elimination of *Coxiella burnetii* in faeces and the transmission of this agent to small rodents by the peroral route. *Bulletin of the World Health Organization* 39:973-974.
- Reháček J., Urvölgyi J., Kocianová E., Jedlická L. (1992) Susceptibility of some species of rodents to rickettsiae. *Folia Parasitologica* 39:265-284.
- Reháček J., Urvölgyi J., Brezina R., Kazár J., Kováčová E. (1978) Experimental infection of hare (*Lepus europaeus*) with *Coxiella burnetii* and *Rickettsia slovaca*. *Acta Virologica* 22:417-425.
- Rodolakis A. (2009) Q fever in dairy animals. pp. 90-93.
- Schaal E. (1974) Animal experiments on the oral transmission of the pathogen of Q fever (*Coxiella burnetii*) by naturally infected milk TIERVERSUCHE ZUR PERORALEN ÜBERTRAGUNG DES Q FIEBER ERREGERS (*COXIELLA BURNETII*) DURCH NATURLICH INFIZIERTE MILCH. *Journal of Veterinary Medicine, Series A* sup.20:245-248.

- Stoker M.G., Marmion B.P. (1955) The spread of Q fever from animals to man; the natural history of a rickettsial disease. Bulletin of the World Health Organization 13:781-806.
- Tamrakar S., Haluska A., Haas C., Bartrand T. (2010) Dose-response model of *Coxiella burnetii* (Q fever). Risk Analysis [Epub ahead of print].

Bijlage I: Literatuuronderzoek

Het literatuuronderzoek is verricht op 30 september met behulp van de literatuurbestanden Scopus en PubMed op basis van de combinatie van onderstaande steekwoorden m.b.t. pathogeen/ziekte, route en gastheer in 'titel, abstract, keywords' (Scopus) en 'all fields' (PubMed).

Scopus:

(Pathogeen/ziekte)

"Q-fever" OR "Q fever" OR Coxiella OR burnetii OR "C. burnetii" OR "Query-fever" OR "Query fever" OR "nine mile" OR "nine-mile" OR "Balkan grippe" OR "Balkan-grippe"

AND

(Route)

Oral* OR mouth OR "per os" OR p.o. OR ingest* OR food* OR feed OR consum* OR eat* OR drink* OR "dose-response" OR "dose response"

AND

(Gastheer)

"Guinea-pig" OR "Guinea pig" OR Cavia OR Caviidae OR Rat OR Rattus OR Mouse OR mice OR Mus OR Muridae OR murine OR Rabbit OR Leporidae OR Hare OR Lepus OR Hamster OR Cricetus OR rodent OR Chicken OR Gallus OR fowl OR poultry OR Cow OR Bos OR cattle OR bovine OR calf OR bull OR heifer OR Sheep OR ram OR ewe OR lamb OR Ovis OR ovine OR Goat OR Capra OR caprine OR kid OR billy-goat OR he-goat OR pig* OR Sus OR swine OR sow OR boar OR "Farm-animals" OR "farm animals" OR farm OR domestic OR host OR ruminant OR herd OR livestock OR "Animal-experiment" OR "animal experiment" OR "animal-model" OR "animal model" OR "laboratory-animal" OR "laboratory animal"

PubMed:

(Pathogeen/ziekte)

Q fever OR Q-fever OR Coxiella OR burnetii OR C. burnetii OR Query fever OR Query-fever OR nine mile OR nine-mile OR Balkan grippe OR Balkan-grippe

AND

(Route)

Oral* OR mouth OR per os OR p.o. OR ingest* OR food* OR feed OR consum* OR eat* OR drink* OR dose-response OR dose response

AND

(Gastheer)

Guinea pig OR Guinea pigs OR Cavia OR Caviidae OR Rat OR rats OR Rattus OR Mouse OR mice OR Mus OR Muridae OR murine OR Rabbit OR rabbits OR Leporidae OR Hare OR hares OR Lepus OR Hamster OR hamsters OR Cricetus OR rodent OR rodents OR Chicken OR chickens OR Gallus OR fowl OR poultry OR Cow OR cows OR cattle OR Bos OR bovine OR calf OR calves OR bull OR bulls OR heifer OR heifers OR Sheep OR ram OR rams OR ewe OR ewes OR lamb OR lambs OR Ovis OR ovine OR Goat OR goats OR Capra OR caprine OR kid OR billy-goat OR he-goat OR pig OR pigs OR Sus OR swine OR sow OR sows OR boar OR

boars OR Farm animals OR farm OR domestic OR host OR ruminant OR herd OR livestock OR Animal experiment OR animal model OR laboratory animal

Van alle gevonden publicaties is de titel en abstract (indien beschikbaar) gescreend op relevantie, d.w.z. het betreft experimenteel onderzoek waarbij proefdieren oraal zijn blootgesteld aan *C. burnetii*. Vervolgens is gezocht naar relevante publicaties die naar de gevonden artikelen verwijzen of waar in de referentielijsten naar verwezen wordt ('sneeuwbaaleffect'). Tevens zijn de volgende reviews en rapporten gescreend op relevante referenties: (Cerf and Condron, 2006; EFSA, 2010; Hart, 1973; Loftis et al., 2010; Marmion, 1959; Rodolakis, 2009; Stoker and Marmion, 1955; Tamrakar et al., 2010).

Bijlage II: Abstracts

1. Elimination of *Coxiella burnetii* in faeces and the transmission of this agent to small rodents by the peroral route. Reháček, J., Ac, P., Brezina, R. 1968 Bulletin of the World Health Organization 39 (6), pp. 973-974.

Geen abstract beschikbaar, hele artikel beschikbaar op:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2554589/pdf/bullwho00233-0129.pdf>

2. Experimental infection of hare (*Lepus europaeus*) with *Coxiella burnetii* and *Rickettsia slovaca*. Reháček, J., Úrvölgyi, J., Brezina, R., Kazár, J., Kováčová, E. 1978 Acta Virologica 22 (5), pp. 417-425 (1 citatie)

Hares (*Lepus europaeus* L.) infected subcutaneously (s.c.) or per os with *Coxiella burnetii* and s.c. with *Rickettsia slovaca* overcame an inapparent infection accompanied by irregular rickettsaemia and distribution of rickettsiae to different organs and variable antibody response. Neither rickettsia could be detected in faeces of infected animals, but *C. burnetii* was found in the urine of one hare, which died on day 13 post infection (p.i.). Antibodies against *C. burnetii* persisted for one year of observation period, those against *R. slovaca* up to the 181st day p.i. Based on the results obtained and data on other lagomorph species, the hare could play an important role as host of *C. burnetii* and *R. slovaca* in nature.

3. Susceptibility of some species of rodents to rickettsiae. Reháček J, Úrvölgyi J, Kocianová E, Jedlická L. Folia Parasitol (Praha). 1992;39(3):265-84. Institute of Virology, Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Czechoslovakia.

The present study was designed to test the susceptibility of free-living rodents, viz *Apodemus flavicollis*, *Microtus arvalis*, *Clethrionomys glareolus*, *Mus musculus*, and outbred white mice from Dobrá Voda farm, CSFR, to *Coxiella burnetii*, rickettsiae of the spotted fever group (*Rickettsia sibirica*, *R. conorii*, *R. slovaca* and *R. akari*) and rickettsiae of typhus group (*R. typhi* and *R. prowazekii*) by various routes of administration. The highest levels of antibodies to *C. burnetii* were found in *A. flavicollis* and *M. arvalis* inoculated intraperitoneally and intracerebrally. Antibodies to *C. burnetii* exerted peak levels between days 13 and 16 in contrast to white mice which showed maximum levels on day 28. When 10(0.5) and 10(0.05) EID₅₀/0.25 ml of *C. burnetii* was administered intraperitoneally to *A. flavicollis*, *M. arvalis* and white mice, the agent was detected only in organs of wild animals. In addition to spleen, the bone marrow appeared as a predilective tissue for the detection of this agent. *R. akari* at a dose of 10(4.5) EID₅₀/0.25 ml caused overt illness and death in rodents. Antibody levels to *R. sibirica* and *R. conorii* were dependent on dosage, route of inoculation and duration of infection, but were not dependent on animal species. Antibodies to *R. slovaca* and *R. akari* were dependent on dosage, infection duration and animal species but were not dependent on the route of infection. For *R. conorii*, *R. sibirica* and *R. slovaca* a sharp increase of antibody levels with high titres on days 4-6 and peak levels about day 11 post intraperitoneal infection was characteristic. Antibody level to *R. akari* increased up to day 21. Spotted fever group rickettsiae

in rodents inoculated intraperitoneally were observed in various organs, particularly in tunica vaginalis and spleen at days 2-8 post infection. *R. typhi* at a dose of 10(4.3) EID50/0.25 ml inoculated intracerebrally or intraperitoneally killed white mice and inoculated intraperitoneally killed *C. glareolus* and *M. musculus*. The antibody response of white mice to intraperitoneal, subcutaneous or intranasal inoculation of this rickettsia was low and no antibody was detected following peroral administration. *M. musculus* did not develop antibodies after intracerebral, intranasal, subcutaneous or peroral inoculation of *R. typhi*. The target organs for this rickettsia were the spleen and tunica vaginalis. *R. prowazekii* inoculated intraperitoneally into white mice at a dose of 10(6.5) EID50/0.25 ml and at a dose of 10(4.5) EID50 into *C. glareolus* was fatal for these rodents. (ABSTRACT TRUNCATED AT 400 WORDS) PMID: 1427494 [PubMed - indexed for MEDLINE]

Beschikbaar op:

<http://www.paru.cas.cz/foia/pdfs/showpdf.php?pdf=21259>

4. Animal experiments on the oral transmission of the pathogen of Q fever (*Coxiella burnetii*) by naturally infected milk | [TIERVERSUCHE ZUR PERORALEN UBERTRAGUNG DES Q FIEBER ERREGERS (COXIELLA BURNETII) DURCH NATURLICH INFIZIERTE MILCH] Schaal, E. 1974 Journal of Veterinary Medicine, Series A sup.20, pp. 245-248 0

By feeding guinea pigs for 5 to 10 days with milk heavily contaminated with *Coxiella*, production of specific antibodies could be induced. In a portion of the positive animals infestation of organs by the pathogen was also demonstrated by passage in animals. Feeding experiments under stress and overstimulation together with administration of prednisolone only yielded partially positive results. Promoting factors for oral infection are the abundance of the pathogens in the milk, the amount of infective units taken up by the animals, the virulence of the strain and the immunological defense of the organism.

5. Lacteal and placental excretion of *Coxiella burnetii*, agent of Q fever, in the cow. Importance and prevention | [L'excrétion lactée et placentaire de *Coxiella burnetii*, agent de la fièvre Q, chez la vache. Importance et prévention.] Durand, M.P. 1993. Bulletin de l'Academie Nationale de Medecine 177 (6), pp. 935-945; discussion 945 (10 citaties)

Q Fever, a true zoonosis, comes always from an animal contamination. The causes of human infection are mainly the pulmonary route and at a less degree the oral route. We describe, from a mouse model, a method of quantitative evaluation of the excretion of *Coxiella* in the milk. Our experiments done on 400 samples of milk of clinically infected cows, show that the mammal excretion is low and irregular. Moreover it needs 10,000 times more of *Coxiella* to the mouse by oral route than by the intraperitoneal route. These facts seem to minimize the importance of the digestive route in the human infection. The most important cause remains the inhalation of infected dusts. The prevention of this animal excretion goes through classical steps of sanitary prophylaxis. Moreover vaccination, antibiotherapy, or association of both reduce but do not stop the excretion in the environment. The application of all or of a part of these measures will strongly reduce the human contamination.

6. Dependence between penetration route and course of infection with *Coxiella burnetii* in mice [Zależność między drogą wniknięcia a

przebiegiem zakażenia *Coxiella burnetii* u myszy.] Kruszevska, D., Tylewska-Wierzbanska, S. 1992. *Medycyna Doswiadczalna i Mikrobiologia*, 44 (3-4), pp. 145-152.

This study was aimed at investigation of course of *Coxiella burnetii* infection in mice infected by these bacteria by different routes. The animals infected intranasally, perorally, intraperitoneally and intravaginally by suspension of *C. burnetii* cells. Mice were also infected via peritoneal and intravaginal route with spermatozoa derived from infected males. In all animals at the same time specific antibodies against phase I and phase II antigens of *C. burnetii* belonging to IgG and IgM classes of similar titers appeared and this was detected by dot-blot immunoenzymatic test. Independently of route of infection *C. burnetii* were present in the liver, spleen, testicles, prostate and spermatozoa of tested animals. The bacteria were detected in these organs for 18 days of infection, in the blood for 7 days only, whereas in urine they appeared as late as 14 days after infection. The course of infection with *C. burnetii* in mice is thus similar regardless of site of bacterial penetration. Infection with *C. burnetii* may be also transmitted by a sexual route from male to female animals. Infection of female mice occurs both after intravaginal application of live suspension of *C. burnetii* or spermatozoa derived from infected males.



Dit is een uitgave van:

**Rijksinstituut voor Volksgezondheid
en Milieu**

Postbus 1 | 3720 BA Bilthoven
www.rivm.nl