

Postbus 1  
3720 BA Bilthoven

A. van Leeuwenhoeklaan 9  
Bilthoven

Tel (030)  
Fax (030)

info@rivm.nl  
www.rivm.nl



Rijksinstituut  
voor Volksgezondheid  
en Milieu

Ministerie van LNV  
T.a.v. de heer  
Postbus 20401  
2500 EK DEN HAAG

MINISTERIE VAN LANDBOUW, NATUUR EN VOEDSELKwaliteit VOEDSELKwaliteit EN DIERGEZONDHEID		
VD: 06/144		
Ontv. 19101 2007	Beantw. 	Paraaf
Classnr. 1.7789 EMI d		

Onderwerp  
Coxiella-diagnostiek

Geachte heer

Datum  
12 januari 2007  
Oms kenmerk  
007/07 MGB AG/np  
Blad  
1/1  
Behandeld door

Mede namens mijn collega's van het Centraal Instituut voor DierziekteControle, de Gezondheidsdienst voor Dieren en het Centrum Infectieziektebestrijding van het RIVM stuur ik u hierbij een veterinair-humaan geïntegreerd onderzoeksvorstel op hoofdlijnen voor de ontwikkeling, validatie en toepassing van *Coxiella*-diagnostiek in Nederland.

MGB  
Tel (030):  
Fax (030):

@rivm.nl

Vanuit het oogpunt van diergezondheid is het nodig om inzicht te verkrijgen in het vóórkomen van *Coxiella* bij (landbouw)huisdieren, teneinde de bijdrage van *Coxiella*-besmetting aan dierziektegevallen in kaart te brengen. Daarnaast is het voor de volksgezondheid van belang een goed inzicht te verkrijgen in de seroprevalentie en het vóórkomen van *Coxiella burnetii* in de humane populatie om een schatting te kunnen maken van het risico en de gezondheidslast van Q-vever. Tevens is het van belang om transmissieroutes van dier naar mens in kaart te brengen.

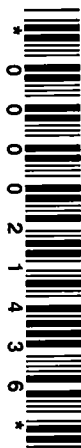
copie aan  
auteurs

Doel van dit gemeenschappelijk onderzoeksvorstel is om de diagnostiek in humane, veterinaire en omgevingsmonsters (verder) te ontwikkelen, te valideren en te harmoniseren ten behoeve van primaire diagnostiek, bronopsporing, prevalentie- en epidemiologisch onderzoek.

Graag vernemen wij uw wensen voor verdere uitwerking cq uitvoering van deze onderzoeksplannen.

Met vriendelijke groet,

Microbiologisch laboratorium voor Gezondheidsbescherming,  
Centrum Infectieziektebestrijding, RIVM



## VOORSTEL VOOR ONTWIKKELING, VALIDATIE EN TOEPASSING VAN COXIELLA -DIAGNOSTIEK IN NEDERLAND

Centrum voor Infectieziektebestrijding (RIVM/Cib):

Centraal Instituut voor DierziekteControle (CIDC-Lelystad):

Gezondheidsdienst voor Dieren (GD):

### Achtergrond

*Coxiella burnetii* is een zoönotische bacterie die bij mens en dier ziekte (Q-koorts) kan veroorzaken. Vaak verloopt de infectie asymptomatisch. Symptomen die bij de mens kunnen optreden zijn o.a. een griepachtig ziektebeeld, koorts en een pneumonie. In chronische gevallen kunnen ernstige aandoeningen aan o.a. hart en lever optreden. Humane (serologische) diagnostiek van *C. burnetii* vindt plaats in verschillende diagnostische laboratoria; de resultaten hiervan worden gerapporteerd in 'de virologische weekstaten'. In Nederland is *C. burnetii* bij de mens aangifteplichtig, melding vindt plaats via OSIRIS. In de periode 2004-2005 vonden 8 meldingen plaats in OSIRIS, terwijl 17 gevallen werden gerapporteerd in de virologische weekstaten. Deze laatste betroffen 16 ziekenhuisopnames en één overleden patiënt. In de periode 1998 -2004 waren er jaarlijks gemiddeld 18 meldingen in de virologische weekstaten en 12 in OSIRIS. Hoogstwaarschijnlijk is er sprake van onderrapportering in OSIRIS of mogelijk dubbelmeldingen van herhaaldelijk geteste patiënten met een chronische infectie in de weekstaten. Seroprevalentiestudies in de tachtiger jaren onder bloeddonoren uit Rotterdam, Groningen en Maastricht lieten een hoge seroprevalentie (24%, 60%, 62%, respectievelijk) zien onder de Nederlandse bevolking welke sterk afhankelijk bleek van regio, geslacht en leeftijd (2). Ofschoon deze studies nooit zijn herhaald en mogelijk een overschatting zijn, is er waarschijnlijk sprake van forse onderdiagnostiek voor Q-fever. In tegenstelling tot de ons omringende landen zijn er in Nederland geen outbreaks van Q-fever beschreven. Onduidelijk is of outbreaks niet voorkomen in Nederland of dat ze niet worden opgemerkt. Als gevolg hiervan kunnen ziektegevallen over het hoofd worden gezien. Bovendien kan er geen onderscheid worden gemaakt tussen natuurlijke en opzettelijke besmettingen.

*C. burnetii* bij dieren is niet aangifteplichtig. *C. burnetii* is aangetoond bij een groot aantal diersoorten inclusief (landbouw)huisdieren. Over het algemeen zijn dieren symptomeloos drager. Pas recentelijk wordt besmetting bij schapen, geiten en runderen in verband gebracht met abortus en verminderde fertiliteit. In gevallen van abortus bij dieren kan GD immuno-histochemische diagnostiek op de placenta en het abortusmateriaal verrichten. Gegevens over het voorkomen van *C. burnetii* bij landbouwhuisdieren zijn schaars. In de jaren '80 vonden Houwers en Richardus bij runderen, schapen en geiten seroprevalenties van respectievelijk 21%, 3,5% en 1% (1). Momenteel wordt serologie bij dieren toegepast bij het CIDC-Lelystad in het kader van exportonderzoek met behulp van de Complement Bindings Reactie (CBR). Daarnaast verricht GD (tank)melkonderzoek van runderen m.b.v. ELISA. De resultaten doen vermoeden dat *C. burnetii* op een groot aantal rundveebedrijven aanwezig is; tot nu toe zijn er echter geen geconfirmeerde gevallen van abortus op melktank-positieve bedrijven gevonden.

*C. burnetii* kan via een sporenachtige vorm worden uitgescheiden in feces, urine, melk, luchtwegen en de amnion-vloesstof en placenta van dieren. De "sporen" zijn zeer resistent en overleven lange tijd in het milieu. Transmissie is mogelijk via besmet stof in de lucht, via

consumptie van rauwe dierlijke producten (melk) en via contact met besmette dierlijke materialen (vlees, abortusmateriaal). Landbouwhuisdieren worden algemeen gezien als belangrijkste infectiebron voor de mens.

Omdat *C. burnetii* in zeer lage doses al kan leiden tot infectie en de de kiem lang in het milieu kan persisteren, heeft ertoe geleid dat het CDC dit agens tot de Categorie B organismen van de lijst van bioterroristische agentia rekent ([www.bt.cdc.gov/agent/agentlist-category.asp](http://www.bt.cdc.gov/agent/agentlist-category.asp)) is geplaatst. In kader van de bestrijding van bioterroristisch aanslagen doet het RIVM onderzoek naar dit organisme.

#### Relevantie voor volksgezondheid en diergezondheid

Voor de volksgezondheid is het van belang een goed inzicht te verkrijgen in de seroprevalentie en het vóórkomen van *Coxiella burnetii* in de humane populatie om een schatting te kunnen maken van het risico en de gezondheidslast van Q-fever. Tevens is het van belang om transmissieroutes van dier naar mens in kaart te brengen. Daarnaast is inzicht in het vóórkomen van *Coxiella* bij (landbouw)huisdieren nodig vanuit het oogpunt van diergezondheid, teneinde de bijdrage van *Coxiella*-besmetting aan dierziektegevallen in kaart te brengen.

#### Betrokken onderzoeksinstituten

Op nationaal niveau werken momenteel het CIDC, de GD en het RIVM/CIB aan *Coxiella*. Daarnaast zijn het CIDC en het RIVM/CIB betrokken bij Europees onderzoek naar Q-fever in het kader van het Europese MedVetNet-project. Hoewel de Faculteit Diergeneeskunde (FD) niet betrokken was bij de uitwerking van dit onderzoeksvoorstel, kan deze kennisinstelling mogelijk worden betrokken bij het onderzoek naar *Coxiella*, met name onderzoek bij gezelschapsdieren.

#### Doelstelling

Doel van dit gemeenschappelijk onderzoeksvoorstel is om de diagnostiek in humane, veterinaire en omgevingsmonsters (verder) te ontwikkelen, te valideren en te harmoniseren ten behoeve van primaire diagnostiek, bronopsporing, prevalentie- en epidemiologisch onderzoek. Hieronder worden voorstellen gedaan voor de verschillende onderzoekscomponenten.

### ONDERZOEKSVORSTELLEN

#### Seroprevalentie-onderzoek

##### Validatie veterinaire serologie

Door GD en het CIDC wordt een selectie gemaakt van commercieel verkrijgbare ELISA's voor serologie van *Coxiella* bij runderen, schapen, geiten en gezelschapsdieren. In overleg zal een geschikte test worden gekozen voor een validatie-onderzoek. Daartoe zullen zowel bloedmonsters als abortusmaterialen verzameld worden van dieren met abortus. De abortusmaterialen zullen door GD worden onderzocht d.m.v. immuno-histochemie. Confirmatie van serologische resultaten zal plaatsvinden bij het CIB d.m.v. een Western blot-techniek en bij het CIDC door middel van de CBR. Hiertoe zal door het CIB een Western blot voor *Coxiella* worden opgezet aan de hand van sera van positief bevonden dieren (verzameld door GD/CIDC) en sera van positief bevonden mensen (verzameld door CIB).

#### Seroprevalentie-onderzoek bij dieren

M.b.v. een gevalideerde serologische test zal prevalentieonderzoek worden uitgevoerd onder de Nederlandse runder-, schapen- en geitenpopulatie. Daarbij zal o.a. gebruik worden gemaakt van sera van schapen en geiten die reeds door GD zijn verzameld in het kader van onderzoek naar *Chlamydomphila*. Naast onderzoek bij landbouwhuisdieren kan mogelijk in samenwerking met de Faculteit Diergeneeskunde onderzoek worden verricht naar de seroprevalentie in de honden- en kattenpopulatie.

#### Validatie humane serologie

De serologische testen die bij het Clb worden gebruikt voor patiëntendiagnostiek, immunofluorescentie testen op IgG en IgM tegen fase 1 en 2 apart, zijn ongeschikt om grotere hoeveelheden monsters te verwerken. Hiervoor zal een geschikte commerciële test worden gezocht dan wel worden overgenomen uit de literatuur, waarbij de keuze o.a. zal afhangen of deze een breed (Europees) draagvlak heeft en ermee verkregen resultaten vergelijkbaar zijn met gegevens uit andere landen.

#### Seroprevalentie-onderzoek bij de mens

Clb zal serologie doen bij risico groepen zoals veehouders en dierenartsen bij probleem bedrijven en een controle groep bij een normaal bedrijf. Voor een goede evaluatie van de data is kennis van seroprevalentie in de gehele humane populatie zodat de risicogroepen en -factoren voor Q-koorts beter in kaart kunnen worden gebracht. Dit laatste zal worden uitgevoerd met monsters van de Pienter studie.

#### Ontwikkeling en validatie PCR-detectie

Ten behoeve van de ontwikkeling en de validatie van een PCR-methode voor de detectie van *Coxiella* in humane, veterinaire en omgevingsmaterialen worden de volgende activiteiten voorgesteld:

#### Kweek van controlematerialen.

In samenwerking tussen het CIDC en het RIVM/Clb zal een *Coxiella* - kweek worden opgezet op BSL-3 niveau. De verkregen materialen zullen worden gebruikt als positieve controles bij het opzetten van de verschillende methoden. Er zal op Europees niveau worden samengewerkt voor de kweek van *Coxiella*: het verkrijgen van stammen en methoden.

#### Ontwikkeling en validatie PCR

In samenwerking tussen het RIVM/Clb en het CIDC zal een solide opwerkingsmethode en robuuste PCR worden opgezet voor de bepaling van *Coxiella* in omgevingsmonsters en humaan en veterinair materiaal. Deze methoden zullen onder andere worden gevalideerd met behulp van immunohistochemisch positieve dierlijke materialen van GD en kweek materiaal. Ook materialen van door het CIDC positief geteste export-dieren kunnen worden gebruikt. Daarnaast zal in samenwerking met de VWA slachthuismateriaal worden verzameld. Tevens zal via de FD materiaal van gezelschapsdieren worden verzameld.

Van mogelijke Q-koorts patiënten (oa patiënten met hartklep problemen en patiënten die serologisch positief zijn bevonden) zal materiaal worden verzameld en getest mbv van deze PCR. De positieve monsters zullen tevens worden gebruikt voor genotyperingsonderzoek.

## Ontwikkeling genotypering

Om bronopsporing mogelijk te maken is er een overeenkomstige techniek voor genotypering nodig. Daartoe zullen het CIb en het CIDC een genotyperingsmethode voor *Coxiella* ontwikkelen die bruikbaar is voor zowel mens, dier en milieu monsters. Samenwerking zal plaatsvinden om kennis en expertise te delen, waarbij beide instituten deel-assays uitvoeren, waarna de resultaten in een gezamenlijke database zullen worden verzameld. Voor genotypering zijn reeds verschillende methoden gepubliceerd. Een aantal methoden zal worden onderzocht waarbij zal worden gekeken of de deze zowel humaan als veterinair bruikbaar zijn en in Europees verband draagvlak heeft om vergelijking met buitenlandse studies mogelijk te maken. Daarnaast zijn de methoden vaak alleen nog getest op gezuiverd DNA van gekweekte *Coxiella* stammen en zullen moeten worden gevalideerd voor complexere materialen. De multilocus variable number of tandem repeats analysis (MLVA) ontwikkeld door het CIb (3) en genotyperingsmethoden op basis van DNA sequencing (4) zullen worden geëvalueerd. In eerste instantie zullen de verschillende methoden op kleine schaal worden geëvalueerd met behulp van gekweekt materiaal en een aantal complexe monsters. Wanneer dit goed loopt en er een goed beeld is van het onderscheidende vermogen van de methoden zullen deze verder worden getest op complexere humane en veterinaire materialen. Hiertoe wordt gebruik gemaakt van de positieve diermonsters van GD en CIDC alsmede van positieve tank-melk-monsters en een aantal controle monsters.

### (Moleculair-) Epidemiologisch onderzoek

Onderzoek naar het voorkomen van Q-fever bij de mens in Nederland geschiedt bij het CIb op basis van de melding van Q-fever-patiënten in het kader van de infectieziektewet en diagnostiek bij humane patiënten. Gegevens van serologie, genotypering en voorkomen van Q-fever bij mens en dier zullen bij het CIb integraal worden geanalyseerd. Daartoe zullen (geanonimiseerde) gegevens (genotype, positief/negatief, serologie, postcode, periode, mens, dier(product), sex, leeftijd, genotype, etc.) van de verschillende kennisinstellingen worden verzameld in een gezamenlijke database op het CIb. Genotypes aangetroffen in dieren, mensen en producten zullen onderling worden vergeleken. Daarbij zal o.a. gebruik worden gemaakt van GIS om moleculair-epidemiologische relaties aan te tonen. Tevens zal vergelijking plaatsvinden in internationale context.

### Transmissie-onderzoek n.a.v. ziektegevallen

Bij (verdenking op) transmissie van dier op mens dienen de betrokken partijen (GD, VWA, GGD, huisartsen) gestimuleerd te worden om monsters af te nemen voor zowel serologie als PCR en genotypering. Gezien de goede contacten van de GD met de veehouders kan de GD daarbij een belangrijke rol spelen. Voor de monsternamen bij mens en dier zal aangesloten worden bij de protocollen van het Landelijk Coördinatiecentrum Infectieziekten (LCI/RIVM) en de VWA (het LCI-protocol wordt op dit moment herzien). Bij het onderzoek zal het RIVM de humane serologie uitvoeren en de GD de veterinaire serologie, terwijl het RIVM en het CIDC zullen samenwerken m.b.t. de PCR en genotypering.

### Referentielijst

1. Houwers, D. J. and J. H. Richardus. 1987. Infections with *Coxiella burnetii* in man and animals in The Netherlands. *Zentralbl. Bakteriologie Mikrobiologie Hygiene [A]*, 267:30-36.

2. Richardus, J. H., A. Donkers, A. M. Dumas, G. J. Schaap, J. P. Akkermans, J. Huisman, and H. A. Valkenburg. 1987. Q fever in the Netherlands: a sero-epidemiological survey among human population groups from 1968 to 1983. *Epidemiol. Infect.* 98:211-219.
3. Svraka, S., Toman, R., Skultety, L., Slaba, K., & Homan, W.L. 2006. Establishment of a genotyping scheme for *Coxiella burnetii*. *FEMS Microbiol Lett* 254(2), 268-74.
4. Glazunova, O., Roux, V., Freylikman, O., Sekeyova, Z., Fournous, G., Tyczka, J., Tokarevich, N., Kovacava, E., Marrie, T.J., & Raoult, D. 2005. *Coxiella burnetii* genotyping. *Emerg Infect Dis* 11(8), 1211-7

Onverwachte en nieuwe bevindingen

Bijlage 2

Bijzonderheden eerste kwartaal 2007 (mondelijke toelichting)

1  
-  
1  
0  
0  
0  
1  
1  
1

- Op een melkgeitenbedrijf met 1600 geiten dat al 3 jaar een gesloten bedrijfsvoering heeft (ook geen aankoop van bokken en KI) met professionele ongediertebestrijding hebben inmiddels van het laatste koppel van 600 geiten (met 500 jaarlingen), 40 dieren verworpen. De geiten zijn niet ziek als gevolg van het verwerpen en lammeren enkele weken te vroeg. Van het in januari aflammerende koppel van 1000 grotendeels oude geiten hebben er maar 5 verworpen. Diagnose bij sectie op vruchten en nageboorte is Q-fever (SZ2007-01050). De mogelijkheden voor interventie op dit bedrijf zijn beperkt. Wel wordt geadviseerd het koppel jonge geiten dat nu net gedekt is, vanaf 90 dagen dracht oxytetracycline (20 mg/kg) in te spuiten om de 14 dagen. Naast bovenstaande case zijn er nog drie geitenbedrijven met respectievelijk 30, 25 en 10% verwerpers waar Q-fever is aangetoond in de nageboorten. Op een van deze geitenbedrijven werd naast Q-fever ook campylobacter aangetoond in de lebmaag van de verworpen vruchten.
- Op een aantal schapen- en geitenbedrijven is de diagnose Chlamydophila abortus gesteld.
- Op twee schapenbedrijven is de diagnose kopervergiftiging gesteld. Beide bedrijven voeren ruwvoer (kuil) van rundveebedrijven die in de voetbaden kopersulfaat gebruiken. De baden worden geleegd in de mestput, waarna met bemesting extra koper op het weiland wordt gebracht. In hoeverre dit ook mede de oorzaak is van de problemen is nog niet volledig duidelijk. Om dit hard te kunnen maken is het advies daarom om het kopergehalte van ruwvoer en krachtvoer te laten bepalen. Ook navragen of de dieren mogelijk uit de voetbaden hebben kunnen drinken.
- Ook op een professioneel geitenbedrijf dat voert volgens een "compleet voer concept" is de diagnose kopervergiftiging gesteld. Op dit bedrijf raakte een aantal geiten acuut uit de melk en zijn 7 geiten gestorven met geelverkleuring en bloedwateren (donkere urine). Op sectie werden leverkoperwaarden aangetroffen van 1100 en 1240 ppm. De geiten krijgen bij dit voerconcept grote hoeveelheden volledig krachtvoer en daarnaast wat hooi, kuil en stro. Het krachtvoeder bevat naast 6-8 ppm koper in de grondstoffen 20 ppm toegevoegd koper. Dit is een normale norm binnen de krachtvoerindustrie. Op dit bedrijf zijn op advies van een "mineralenverkoper" aan de geiten ook likblokken gegeven ("cattleboost" met volgens het label 600 mg koper/kg). Op dit moment wordt uitgezocht wat de werkelijke gehalten aan koper in deze likblokken zijn. Gevallen van kopervergiftiging bij geiten zijn uiterst zeldzaam.

Regelgeving, Cee, Dierwetenschappen, Runderen  
22/5 '07

13A

Bijlage 7

# Q FEVER bij Rundvee

~~Van der Pijl~~



# INHOUDSOPGAVE

	pagina
<b>Hoofdstuk 1: Algemeen</b>	
- Inleiding	3
- Omschrijving kiem	3
- Voorkomen bij meerdere diersoorten en mens	3
- Ziekte bij de mens en belang voor de volksgezondheid	4
<b>Hoofdstuk 2: Diagnostiek</b>	6
<b>Hoofdstuk 3: Klinische verschijnselen</b>	
- Rund	8
- Schaap/geit	9
- Overige diersoorten	9
<b>Hoofdstuk 4: Uitscheiding van de kiem</b>	10
<b>Hoofdstuk 5: Prevalentie bij runderen</b>	
- Nederland	12
- Andere landen	12
<b>Hoofdstuk 6: Aanpak besmette bedrijven</b>	
- Vaccinatie	14
- Antibiotica	15
- Opsporen en afvoeren besmette runderen	15
- Algemene maatregelen	16
- Maatregelen in kader volksgezondheid	16
<b>Hoofdstuk 7: Preventie</b>	17
<b>Hoofdstuk 8: Programma's buitenland</b>	
- Frankrijk	19
- Duitsland	19
<b>Hoofdstuk 9: Aanbevelingen</b>	20
<b>Hoofdstuk 10: Literatuur</b>	21
<b>Bijlage 1: Bezoek ACERSA, FNGDSB, CNIEL (Parijs, 26-09-2006)</b>	

## Hoofdstuk 1: Algemeen

### Inleiding

Q fever, ook wel Q koorts genoemd, is een wereldwijd voorkomende infectie bij mens en dier. In diverse landen wordt er aandacht aan besteed. De veroorzaker van de ziekte, *Coxiella burnetii*, kreeg recentelijk weer meer aandacht omdat de kiem door sommige instanties (zoals de Europese Commissie) gezien wordt als middel voor biologische oorlogsvoering. In dit rapport wordt de kiem beschreven, de ziektebeelden die ermee geassocieerd worden, en mogelijke methoden voor opsporing en bestrijding bij rundvee.

### Omschrijving kiem

De verwekker van Q fever is *Coxiella burnetii* en dit is een obligaat intracellulaire, gram-negatieve bacterie. Werd de kiem eerst nog geschaard onder de Rickettsiae, nu heeft hij zijn plek gekregen in de orde van de Legionellae, in de familie Coxiellaceae waarvan *Coxiella burnetii* het enige species is. Het eerste beschreven geval van Q fever betrof een uitbraak van koorts onder slachthuispersoneel in Queensland, Australië, in 1935 (Derrick 1937) en is nader onderzocht door Burnet, waardoor de ziekteverwekker zijn naam kreeg. Min of meer tegelijkertijd werd de kiem ook gevonden in de Verenigde Staten door Cox, die de bacterie isoleerde uit teken. Deze stam functioneert nu nog steeds als basis voor diverse testen en vaccins (Parker et al 2006; Woldehiwet 2004; Fournier et al 1999).

De bacterie wordt in twee vormen aangetroffen: een small-cell-variant (SCV) en een large-cell-variant (LCV). Deze vormen zijn te onderscheiden met electronenmicroscopie. De SCV is zeer immuun tegen chemische invloeden, uitdroging en temperatuur, en wordt soms ook wel "spore" genoemd. De SCV is zeer stabiel in aerosolen (in ingedroogde dierlijke cellen). De SCV is zeer infectieus. De SCV wordt bij entree in een gastheer (dier of mens) gefagocyteerd door macrofagen, en vormt zich vervolgens in de fagocyt om tot LCV. Als LCV vermeerdert de kiem zich in de fagocyten, en blijft daar persistent aanwezig.

*Coxiella burnetii* heeft twee antigene fasen: fase I en fase II. Wanneer de bacterie direct uit een dier of mens wordt onderzocht, is hij in fase I, wanneer de bacterie enkele malen gekweekt is op celcultuur of bebroede kippeneieren, is hij in fase II.

Deze antigene variatie heeft zijn oorsprong in een verandering in de LPS-laag (lipopolysaccharide-laag) van de bacterie. In fase I is de LPS-laag compleet en zorgt er onder meer voor dat immuunglobulinen van de gastheer gehinderd worden bij het binden aan de oppervlakte-eiwitten van bacterie, daarmee een effectieve afweerreactie verstorend. In fase I is *Coxiella burnetii* zeer infectieus en virulent. In fase II heeft het LPS een ander suikersamenstelling en is het LPS korter. Hierdoor krijgen immuunglobulinen de kans de bacterie te naderen en onschadelijk te maken. Deze variatie in antigene fasen (fase I en fase II) is analoog aan "smooth" en "rough" varianten van andere gram-negatieve bacteriën. Dit is van belang in de diagnostiek en de vaccinbereiding (Parker et al 2006; Woldehiwet 2004; Fournier et al 1999). *Coxiella burnetii* isolaten zijn genetisch sterk homogeen, maar met restrictie enzym technieken kunnen wel verschillende stammen onderscheiden worden.

### Voorkomen bij diverse diersoorten en mens

De bacterie wordt wereldwijd (met uitzondering van Nieuw Zeeland) gevonden (Woldehiwet 2004<sup>ab</sup>). Het reservoir is de dierenwereld, waarbij opvallend is dat de bacterie in zeer veel diersoorten is gevonden: wilde dieren, gedomesticeerde dieren, diverse vogels, zoogdieren, allerlei insecten. Bij besmetting van (wilde) dieren spelen teken mogelijk een rol (Norlander 2000, Sting et al 2004), echter dit wordt betwijfeld door andere onderzoekers (Parisi et al 2006; Richardus 1998).

Infecties bij mensen zijn het gevolg van toevallige "spill-over" uit het dierreservoir. In het algemeen worden schapen, geiten en runderen als de belangrijkste bron voor infecties van de mens gezien (Parker et al 2006). Ook katten, honden en knaagdieren zijn mogelijke bronnen voor infecties van mensen (Pinsky et al 1991, Komiya et al 2003, Fournier et al 1998). Infecties van mens op mens zijn zeldzaam (Fournier et al 1998). De belangrijkste porte d'entrée bij de mens is het respiratoire slijmvlies of de conjunctiva, en waarschijnlijk is ook het intestinale slijmvlies een mogelijke route. Na entree volgt een hematogene verspreiding en een systemische infectie. Bij de mens is de infectie meestal zelflimiterend. Bij dieren persisteert de bacterie in het baarmoederslijmvlies en in melkklieren. Waarschijnlijk is dat bij mensen ook het geval (Harris et al 2000). *Coxiella burnetii* is ook bij mensen in placenta en moedermelk aangetoond (Richardus 1998).

### Ziekte bij de mens, belang volksgezondheid

De ziekteverschijnselen bij de mens zijn divers. Een groot deel van de infecties gaat symptomeloos voorbij. Wanneer er wel verschijnselen optreden, bestaan ze in de acute fase uit griepachtige symptomen: langdurig (7-10 dagen) hoge koorts, hoofdpijn, spierpijn, geen eetlust, misselijkheid, braken, diarree, hoesten, pijn op de borst (Parker 2006; Richardus 1998; Gageldonk-Lafeber et al 2003). Een atypische pneumonie of leverontsteking wordt vaak gezien. De incubatietijd is 2-4 weken, soms zelfs 6 weken. In een goed gedocumenteerde uitbraak in Zwitserland leidde een uitbraak tot hospitalisatie van 2% van de besmette mensen. Wanneer de infectie chronisch verloopt, kan er een ontsteking van het hartklepje (endocarditis) ontstaan. Dit kan jaren na de oorspronkelijke infectie nog manifest worden. In Zuid-Frankrijk bijvoorbeeld wordt 5-8% van de endocarditis gevallen door *Coxiella burnetii* veroorzaakt (Fournier et al 1998). Bij mensen is er een relatie gevonden tussen Q fever infectie en abortus of doodgeboren kinderen (Parker 2006). Recent wordt ook chronische vermoeidheid als gevolg van Q fever gezien (Harris et al 2000; Parker 2006). Meestal herstellen mensen met Q fever, echter wanneer de infectie chronisch is geworden is de sterfte 1-11% (Fournier 1998). Waarschijnlijk wordt het aantal humane gevallen van Q fever onderschat (Kovacova and Kazar, 2002)

In veel landen zijn tamelijk grote uitbraken vastgesteld.

In augustus 2006 werden bijvoorbeeld in een vleesverwerkende fabriek in Schotland 49 werknemers ziek (koorts, hoofdpijn, hoesten, spier- en gewrichtspijn), waarvan er 18 in het ziekenhuis moesten worden opgenomen (RIVM, rapportage 31 augustus 2006). Bij 51 personen werd serologisch een infectie met Q fever vastgesteld. Besmette schapen of runderen, die in het bedrijf werden geslacht, waren de vermoedelijke bron. Er zijn bij andere mensen, naast de werknemers van het bedrijf, geen klinische klachten van Q fever geweest. In Frankrijk is ook een uitbraak beschreven die gerelateerd was aan een slachthuis (Carrieri et al 2002)

Bij een uitbraak in een school in Groot-Brittannië werd de infectie werd waarschijnlijk opgelopen van 5 geiten die werden gehouden en verzorgd op school. Alle 5 geiten bleken seropositief te zijn. Contact met de geiten op de dag dat ze aflammerden, werd als belangrijke risicofactor geïdentificeerd (Jorm et al 1990). Een kwart van de seropositieve mensen had echter geen enkel contact met de dieren gehad, en was waarschijnlijk geïnfecteerd door besmet stof. In deze uitbraak werden slechts 1 op de dertig besmette individuen ziek. In Engeland wees een case-control studie uit dat contact met dieren of dierlijke producten een belangrijke risicofactor voor Q fever waren (Orr et al 2006)

In Canada is een uitbraak bij mensen beschreven, die gerelateerd werd aan een Q fever uitbraak bij geiten (Hatchette et al 2001). Risicofactoren voor infectie bij de mens waren het

eten van gepasteuriseerde geitenkaas en contact met de placenta's van geiten. De Odds Ratio's voor deze factoren waren 5.3 en 12.1.

Een Japanse auteur meldt dat in Japan runderen met vruchtbaarheidsproblemen waarschijnlijk een van de belangrijkste reservoirs zijn voor het besmetten van mens en dier (To et al 1998). In het Verenigd Koninkrijk worden jaarlijks circa 150 gevallen van Q fever bij mensen gemeld (Cowley 1992).

In Duitsland is Q fever bij mensen (en dieren) meldingsplichtig. Jaarlijks worden tussen 50 en 300 gevallen gemeld. Door het Robert Koch Instituut zijn 40 uitbraken uitgebreid geanalyseerd, waarbij 24 uitbraken aan schapen te wijten waren en 6 uitbraken aan runderen (gerelateerd aan slachthuizen, of aan contacten met verwerpers, of consumptie van besmette melk (Hellenbrand et al 2001).

Nederland is nog nooit een grote uitbraak vastgesteld, in tegenstelling tot vele andere landen. In Nederland is Q fever bij mensen meldingsplichtig. Jaarlijks worden slechts circa 20 gevallen gemeld. Algemeen wordt verwacht dat dit een sterke onderschatting is van het werkelijk aantal ziektegevallen (vooral omdat de symptomen zo divers zijn, en de diagnostiek gecompliceerd) (van Gageldonk-Lafeber 2003).

De meldingsplicht maakt het mogelijk om brononderzoek te doen. Het blijkt echter vaak onmogelijk om de bron te vinden. De belangrijkste redenen hiervoor zijn:

- De onderzoeksresultaten van de dieren zijn vaak moeilijk te interpreteren.

- Dieren kunnen asymptomatisch drager zijn van de kiem.

- Besmettingsbronnen zijn moeilijk te vinden omdat de kiem over grote afstanden met de wind kan worden verspreid en omdat de kiem zeer resistent is en daarom lang kan overleven.

Hierdoor is het mogelijk dat mensen besmet worden zonder direct contact met dieren (Gageldonk-Lafeber et al 2003, Warris-Versteegen, 2003).

Mensen met Q fever worden behandeld met antibiotica. Daarbij wordt onderscheid gemaakt tussen de behandelingen van de acute en de chronische fase. In de acute fase wordt een kuur van 14 dagen doxycycline (vroeger ook wel tetracycline) aanbevolen. Bij chronische infecties moeten antibiotica gedurende zeer lange perioden worden voorgeschreven. Perioden van 1.5-3 jaar worden hierbij genoemd (Gageldonk-Lafeber 2003)

In Nederland werd Q fever als een zeer zeldzame ziekte beschouwd tot de 80-er jaren. Er waren enkele klinische gevallen geweest in 1956 in de buurt van Rotterdam, waarbij 1 patiënt in een slachthuis werkte. Serologisch onderzoek voor 1956 bij mensen en dieren had geen seropositieve gevallen opgeleverd. Een latere serologische studie (Houwens en Richardus 1987) leverde op dat 84% van de geteste dierenartsen seropositief was, evenals 68% van de geteste rundveehouders, en 45% van de geteste wolspinsters. Van een groep bloeddonoren was gemiddeld ook 45% seropositief. De gebruikte test was een indirecte immuunfluorescentie test. Houwens en Richardus (1987) concludeerden dat runderen, en in mindere mate schapen en geiten in Nederland een belangrijke bron voor Q fever bij mensen vormden. In Nederland zijn meerdere gevallen van Q koorts bij mensen beschreven (Stevens et al 2000; van de Veerdonk et al 2003).

## Hoofdstuk 2: Diagnostiek

Voor humane diagnostiek wordt serologie gebruikt. Diverse testen worden gebruikt, waarbij een indirecte immuofluorescentietest vaak als referentietest wordt gebruikt. Ook gebruikt men CBR testen, Western blotting, agglutinatietesten, en ELISAs.

In de humane diagnostiek wordt onderscheid gemaakt tussen afweerstoffen gericht tegen Fase I antigenen (deze zijn alleen hoog bij de chronische infecties) en afweerstoffen tegen fase II antigenen (die juist hoog zijn in de acute fase). Hiernaast maakt men onderscheid tussen IgM en IgG antilichamen. Omdat mensen na infectie maanden tot jaren seropositief blijven is een serie testen noodzakelijk om bij klinische verschijnselen Q fever als oorzakelijk agens aan te wijzen (Bartelink et al 2000). Humaan wordt de PCR niet veel toegepast in Nederland (PCR is geen onderdeel van het standaard protocol Q koorts van het RIVM LCI). In Nederland is momenteel geen PCR operationeel. Het kweken van de bacterie wordt diagnostisch niet toegepast.

De veterinaire diagnostiek bestaat uit het aantonen van afweerstoffen tegen *Coxiella burnetii* of het aantonen van de bacterie of het genoom van de bacterie.

Afweerstoffen tegen *Coxiella burnetii* zijn aan te tonen met een Complement Bindingsreactie (CBR) zoals deze bijvoorbeeld gebruikt wordt in het internationale handelsverkeer (in Nederland uitgevoerd door CIDC). De CBR test heeft een matige gevoeligheid en het duurt vrij lang alvorens de CBR afweerstoffen aantoont na infectie (Fournier et al 1998). Diverse andere technieken zijn mogelijk, vergelijkbaar met de humane diagnostiek (Woldehivet 2004). Er zijn diverse ELISA testen verkrijgbaar, meestal gebaseerd op het aantonen van IgG tegen een combinatie van Fase I en II antigenen. Een beperkte vergelijking van testen is beschreven door Schmeer (1985) en Behymer et al (1985). Dit zijn gedateerde studies en de huidige ELISA testen zijn daarin niet onderzocht. Er zijn geen uitgebreide validatiestudies van de diverse serologische testen beschreven. In het algemeen kan serologisch kruisreactie verwacht worden tegen *Chlamydia* en *Leptospiren* (Parker et al 2006). Dieren blijven waarschijnlijk maanden tot jaren seropositief na infectie (Berri et al 2002; Parker et al 2006). Er is geen standaardtest (OIE Terrestrial Manual 2004)

Het aantonen van de bacterie kan door middel van kweek, echter hiervoor is een speciaal toegerust (biosafety level 3) laboratorium nodig. Met behulp van immunohistochemische kleuring kan in de bacterie in weefsel worden aangetoond (bijvoorbeeld in placenta's van verworpen vruchten, zoals door GD gebeurt). Recent zijn diverse moleculair biologische detectiemethoden beschreven en gevalideerd om het genoom van de bacterie aan te tonen (Fournier et al 1989, Henning 2002) Deze zijn routinematig in gebruik in diverse landen (Italië, Frankrijk). De meeste PCR testen zijn gebaseerd op het vermeerderen en detecteren van een conservatief deel van het genoom, het zogenaamde trans-positon-like element (Trans PCR). Dit kan met een enkelvoudige PCR (Berri et al 2000) of een gevoeliger nested PCR (Parisi et al 2006). Omdat *Coxiella* celgebonden is, heeft een PCR in serum waarschijnlijk weinig waarde (door de afwezigheid van cellen) (Parker 2006). Ook zijn real time PCR methodes beschreven, die ook kwantitatief gebruikt kunnen worden (Harris et al 2000; Kim et al 2005). In melk kan de PCR gecombineerd worden met immunomagnetische separatie methoden (Muramatsu et al 1996; Capuano et al 2004) of silica bindingsmethoden (Lorenz et al 1998) om ook heel kleine aantallen kiemen op te sporen. De PCR kan met enige aanpassing ook toegepast worden op faeces (Berri et al 2002). Met een PCR kan DNA van *Coxiella burnetii* ook aangetoond worden in paraffine coupes van weefsel (Yuasa et al 1996). De PCR kan toegepast worden op vaginaal slijm (vaginaal swabs) en faeces. Voor verworpen foeten

wordt aangeraden om hersenen en lever te testen met PCR (Parisi et al 2006). In Europa zijn meerdere PCR testen commercieel verkrijgbaar.

Er zijn diverse molecuair-biologische typeringsmethodes beschreven ( Arricau-Bouvery et al 2006).

In het algemeen is een nadeel van molecuair biologische detectiemethoden dat er ook afgedode bacteriën aangetoond worden, en er wel geconcludeerd worden dat er een infectie heeft plaatsgevonden, maar niets geconcludeerd kan worden over eventuele besmettelijkheid van aangetoonde kiemen.

3 Conclusie: er zijn internationaal voldoende technieken beschreven en verkrijgbaar om de infectie aan te tonen.

## Hoofdstuk 3: Klinische verschijnselen

Coxiella burnetii dringt vooral via de luchtwegen binnen. Bij dieren zijn (in tegenstelling tot bij de mens) hart- of longinfecties slechts zelden vastgesteld, met uitzondering van experimentele infecties (Plömmet et al 1973). In de chronische fase worden bij dieren geen klinische afwijkingen gevonden. Indien er klinische verschijnselen optreden bij dieren, is abortus in een gevorderd stadium van de dracht het belangrijkste symptoom (Woldehiwet 2004). In dit stadium is ook sprake van de grootste besmettelijkheid, ook voor de mens. Naast abortus kunnen doodgeboorten, aan de nageboorte staan, baarmoederontsteking en onvruchtbaarheid als klinische verschijnselen optreden. Placentitis is het meest karakteristieke kenmerk van Q fever. De placenta is leerachtig en verdikt en kan grote hoeveelheden witgelig exsudaat aan de randen van de cotyledonen en ook tussen de cotyledonen bevatten. Soms kan het exsudaat roodbruin van kleur zijn. Kleine stolsels en vaatwandontsteking kunnen bij histologisch onderzoek gezien worden. Bij de geaborteerde kalveren en geiten- en schapenlammeren is pneumonie waargenomen. Meestal zijn de afwijkingen in de geaborteerde foeten niet specifiek (OIE, juni 2004).

### Rund

In diverse landen is onderzoek gedaan naar het voorkomen van Coxiella burnetii bij runderen met vruchtbaarheidsproblemen. In Italië werden sera van 650 geaborteerde runderen en 600 at random verzamelde sera onderzocht op afweerstoffen tegen C. burnetii (ELISA). De percentages seropositieve dieren waren significant verschillend tussen beide groepen en bedroegen respectievelijk 45% en 22%. De hoogste prevalenties werden gezien bij runderen die in de herfst aborteerden en/of hoogdrachtig waren (Cabassi et al 2006).

In een Italiaans onderzoek zijn 138 geaborteerde runderfoetussen onderzocht, waarbij 12% PCR positief was (Parisi et al 2006).

Runderen met een inseminatiegetal van tenminste 2 hadden vaker antistoffen tegen Q fever in vergelijking met runderen die minder vaak geïnsemineerd werden (Sting et al 2000). Wat betreft abortus, waren er geen serologische verschillen tussen proef- en controlegroep. In een ander Duits onderzoek werden tegengestelde resultaten gevonden, namelijk dat Q fever infecties wel gerelateerd waren aan abortus, maar niet aan niet-succesvolle, herhaalde inseminaties of vaginale uitvloeiing (Sting et al 2002).

In een Japans onderzoek zijn 61 uteruswabs van melkkoeien met vruchtbaarheidsproblemen onderzocht op de aanwezigheid van C. burnetii, en bij 21% werd de kiem aangetoond met PCR. Dit suggereert een hoge prevalentie van de kiem bij Japans melkvee met vruchtbaarheidsproblemen (Ho et al 1995). Een vergelijkbaar resultaat is ook gevonden in een serologisch onderzoek met behulp van een CBR test. Runderen met vruchtbaarheidsproblemen waren vaker CBR positief dan runderen met een normale vruchtbaarheid (Wittenbrink et al 1994). In een onderzoek van Tainturier (1987) is C. burnetii als oorzaak van metritis vastgesteld.

In Nederland is een dergelijk onderzoek niet uitgevoerd. Sinds twee jaar wordt door de GD standaard immuunhistochemisch onderzoek op Q fever uitgevoerd indien er afwijkingen in de placenta worden aangetroffen. Echter, placenta's worden bij GD niet vaak ter onderzoek aangeboden. Slechts bij een beperkt deel van de bij de GD ingezonden geaborteerde vruchten wordt ook de nageboorte meegestuurd. Tot op heden is de diagnose Q fever bij verwerpende runderen op basis van onderzoek van de placenta, in Nederland nog niet gesteld.

Geconcludeerd mag worden uit buitenlands onderzoek, dat Q fever waarschijnlijk de vruchtbaarheid van de runderen negatief beïnvloedt, waarbij abortus een belangrijk symptoom is. Hoe groot deze invloed is, is onduidelijk. De verschillende onderzoeken zijn moeilijk te

vergelijken, met name door een verschillende proefopzet (selectie dieren/bedrijven, aantal onderzochte dieren/bedrijven, verschillen in diagnostiek).

### Schaap/geit

Bij geiten en schapen wordt Q fever als een vruchtbaarheidsprobleem ervaren.

Infectie van drachtige schapen veroorzaakt abortus en de geboorte van slappe lammeren (Berri et al 2002). In Sardinië (Italië) zijn 372 geaborteerde schapenfoetussen en 50 geitenfoetussen onderzocht m.b.v. PCR (Masala et al 2004). Tien procent van de schapenfoetussen was PCR positief, bij de geitenlammeren was dit 6%.

Drachtige geiten werden bij een drachtlengte van 90 dagen subcutaan met 3 verschillende doseringen besmet met *Coxiella burnetii*. Alle geiten hebben verworpen. De bacterie werd d.m.v. PCR en immunofluorescentie aangetoond in alle placenta's en in verschillende organen van de lammeren. De geiten scheidde tot 14 dagen na abortus bacteriën uit via vaginale excreta en tot 52 dagen via de melk. Een paar geiten scheidde al voor de abortus kiemen uit via de mest, na abortus was dit bij alle geiten het geval (Arricau-Bouvery et al 2003).

Na een natuurlijke infectie in een koppel met alleen 1<sup>e</sup> worps geiten (n = 56) aborteerde 1 geit, 9 geiten hadden doodgeboren lammeren en 6 geiten hadden zwakgeboren lammeren.

Daarnaast lammerden 8 geiten niet, terwijl zij als drachtig beschouwd werden. In het daarop volgende aflammerseizoen was het percentage normale geboorten veel hoger. Een geit aborteerde, 3 geiten hadden slaggeboren lammeren en 3 geiten lammerden niet. Na een natuurlijke infectie treden de meest vruchtbaarheidsproblemen tijdens het 1<sup>e</sup> aflammerseizoen op (Berri et al 2005). Echter, Hachette et al (2001) beschreven dat geiten ook chronisch geïnfecteerd kunnen worden, waarbij de uitscheiding van de kiem aangetoond werd tot 2 aflammerseizoenen na de infectie. Ook in Nederland zijn op 6 schapen- en geitenbedrijven verwerpers aangetroffen waarbij op basis van placenta-onderzoek de diagnose Q fever gesteld kon worden (in totaal 10 dieren). Op deze bedrijven bleken meerdere dieren seropositief (mondelijke mededeling GD).

### Overige diersoorten

Bij onderzoek bij cavia's bleek dat de infectieroute en de infectiedosis de klinische expressie van Q fever beïnvloedden (La Scola et al 1997). Mogelijk is dit ook het geval bij andere diersoorten en de mens.



## Hoofdstuk 4: Uitscheiding van de kiem

*C. burnetii* wordt op verschillende manier uitgescheiden door een dier. De afgelopen decennia zijn hierover meerdere onderzoeken uitgevoerd. De resultaten hiervan zijn moeilijk te vergelijken, met name omdat de diagnostische methoden in diezelfde periode sterk zijn veranderd. De laatste jaren is bij veel onderzoeken gebruik gemaakt van de PCR-techniek. Excreta, waarmee de kiem door herkauwers wordt uitgescheiden, zijn:

### a. Melk

In een studie in de VS werden koeien in een besmette koppel gevolgd waarbij gedurende enkele weken bij circa de helft van de koeien met PCR *Coxiella* werd aangetoond in de melk. In 94% van de geteste tankmelkmonsters werd met PCR het genoom van *Coxiella* aangetoond (Kim et al 2005). Bij een rundvee koppel in Japan met vruchtbaarheidsproblemen zijn 214 melkmonsters onderzocht en in 17% van de melkmonsters bleek *C. burnetii* aanwezig te zijn (To et al 1998). In Japan is met PCR in supermarktmelk het genoom van *Coxiella burnetii* aangetoond, maar dit bleek bij inspuiting in muizen niet meer infectieus (Hirai et al 2005). In andere studies is de kiem uit melk gekweekt (Schaal 1977; Durand and Limouzin 1983; Lorenz et al 1998). De uitscheiding kan intermitterend optreden en de uitscheidingsduur varieert (Berri et al 2002). Bij geiten is na een experimentele infectie de kiem uitgescheiden gedurende een periode tot 56 dagen. In een tweede experimentele onderzoek varieerde de uitscheidingsduur van 3 dagen tot 63 dagen (Arricau-Bouvery et al 2003). Ook na natuurlijke infectie is bij geiten en schapen uitscheiding in melk aangetoond met behulp van PCR (Berri et al 2005; Berri et al 2001). Mogelijk treedt bij een deel van de besmette runderen na afkalven een kortdurende uitscheiding op.

### b. Placenta

De bacterie vermeerdt zich sterk in de placenta en wordt via de nageboorte en vruchtwater uitgescheiden (Plommet et al 1973). De hoeveelheid kiemen, die via de placenta wordt uitgescheiden, kan erg groot zijn. Waarden van meer dan  $10^9$  kiemen zijn bij de ooi vastgesteld (Babudieri 1959).

### c. Foetus

Bij een onderzoek van geaborteerde runderen was 12% van de onderzochte foetussen PCR positief op *C. burnetii* (Parisi et al 2006).

### d. Vaginale excreta

In een onderzoek van To et al (1998) werd *C. burnetii* in 21% van de 61 onderzochte koeien in de vaginale excreta aangetoond. Deze runderen behoorden bij een rundveekoppel met vruchtbaarheidsproblemen. Ook bij schapen kan de kiem met PCR aangetoond worden in vaginaal swabs (Berri et al 2000)

### e. Faeces

In het onderzoek van Guatteo et al (2005) werd bij 40% van de 60 besmette runderen de kiem met PCR aangetoond in de faeces. Na experimentele besmetting van geiten (Arricau-Bouvery et al 2003) scheidden alle dieren de kiem uit en deze uitscheiding duurde gemiddeld 40 dagen.

### f. Sperma

In een Pools onderzoek zijn *C. burnetii* aangetoond in het sperma van seropositieve stieren (Kruszewska and Tylewska-Wierzbanska 1997). Dit lijkt echter geen belangrijke transmissieroute (OIE 2004).

Geconcludeerd mag worden dat de uitscheiding van *C. burnetii* maximaal is tijdens het geboorteprocés, vooral doordat de placenta veel kiemen bevat. In de vaginale excreta zijn de eerste 2 dagen na de partus ook veel kiemen aanwezig, en dit aantal daalt in de daarop volgende periode. Het geboorteprocés is dus een belangrijke periode voor het verspreiden van de kiem naar koppelgenoten, andere dieren en de mens. Het is onbekend of dit ook het geval is bij normale geboorteprocésen van seropositieve dieren. De maximale uitscheidingsduur van de kiem in melk is onbekend, maar kan bij runderen en geiten tenminste enkele maanden bedragen.

## Hoofdstuk 5: Prevalentie bij runderen

De eerste meldingen van Q fever zijn afkomstig van Australische en Amerikaanse onderzoekers. Vervolgens is de kiem wereldwijd aangetoond in andere landen bij diverse diersoorten.

### Nederland

In totaal 1160 sera, afkomstig van 234 melkveebedrijven met ademhalingsklachten bij het rundvee, zijn door middel van een indirecte Elisa ( op basis van fase II antigeen) onderzocht op Q fever (Houwens et al 1987). De seroprevalentie op dierniveau was 21%. Op 37% van de bedrijven was minstens tenminste 1 seropositief rund gevonden. Het gemiddelde percentage seropositieve runderen per seropositief bedrijf was 35%. Van de 86 seropositieve bedrijven werd bij 24 bedrijven vermeld dat abortus een probleem was geweest. Bij deze bedrijven was het percentage seropositieve runderen gemiddeld 41%. Indien het woord abortus in de anamnese niet vermeld werd, was dit percentage 32%

Het percentage seropositieve runderen, dat in Nederland voor exportonderzoek werd onderzocht d.m.v. de CBR, steeg in de periode 1994-1997 van 0% tot 8% (Advies Q Koorts 1999). Het aantal onderzochte monsters steeg in diezelfde periode van 290 tot 3018. In het kader van de specifieke monitoring van enkele aandoeningen zoals door GD uitgevoerd, zijn in het winterseizoen 2005-2006 385 bedrijven aselekt gekozen voor onderzoek op afweerstoffen tegen Q fever in tankmelk. Van 344 bedrijven waren alle gegevens aanwezig voor analyse. Het onderzoek is uitgevoerd met een indirecte afweerstoffen ELISA (met een combinatie van fase I en II antigenen). Met deze ELISA werden in 56.7% van de tankmelkmonsters afweerstoffen aangetoond. Rekening houdend met de testeigenschappen (sensitiviteit en specificiteit) is berekend dat op 35% van de bedrijven minstens 30% van de aanwezige runderen besmet is. Verdeeld over de verschillende categorieën tankmelkuitslagen (negatief tot hoog positief) zijn 96 bedrijven geselecteerd, waarvan per bedrijf 25 runderen van tenminste 3 jaar oud individueel serologisch zijn onderzocht. De prevalentie bij deze koeien was 32.7%. Op slechts 20% van de individueel onderzochte bedrijven was het percentage seropositieve runderen kleiner dan 10%. Op 20% van deze bedrijven was meer dan 50% van de runderen seropositief. (Rapportage specifieke monitoring 2005-2006, 2006).

### Andere landen

#### a. Italië

In een Italiaans onderzoek (Capuano et al 2001) zijn in totaal 1188 runderen serologisch onderzocht m.b.v. een indirecte immunofluorescentie test. De gemiddelde seroprevalentie was 14.4%. De bedrijven, die de koeien 's winters op stal hadden en in het voorjaar weidegang kregen, hadden de hoogste seroprevalentie (19.6%), gevolgd door de bedrijven met een permanent stalseizoen (13.2%) en bedrijven, waar de runderen helemaal niet op stal kwamen (1.9%).

De seroprevalentie in een Italiaanse regio (Campania) is berekend op 14%. Bij schapen was de seroprevalentie 12%, bij geiten 6% (Capuano et al 2004).

#### b. Turkije

In 1998 zijn in Oost-Turkije 416 runderen en 411 schapen onderzocht met behulp van de indirecte fluorescentie antilichamen testen (Cetinkaya et al 2000). De dieren waren afkomstig van 48 rundvee- en 47 schapenbedrijven. De percentages seropositieve runderen en schapen

waren respectievelijk 5.8% en 10.5%. Het percentage seropositieve rundveebedrijven was 35%, bij de schapenbedrijven was dit 45%.

c. Canada

Verspreid door Newfoundland, een Canadese provincie, zijn 75 runderen serologisch onderzocht (Hatchette et al 2002). De percentages runderen, die afweerstoffen hadden tegen *C. burnetii* Fase I en Fase II, bedroegen 24 en 9.

d. Verenigde Staten

Gedurende de jaren 2001-2003 zijn van 316 bedrijven tankmelkmonsters onderzocht op een laboratorium in de staat New York (VS) d.m.v. de PCR-techniek (Kim et al 2005). De monsters zijn niet aselekt genomen. De prevalentie over de 3 jaren heen was gemiddeld 94.3%.

Deze gegevens komen overeen met de resultaten van een onderzoek van 24 melkveebedrijven, die geassocieerd waren met Amerikaanse veterinaire faculteiten. Van deze bedrijven had 92% van de tankmelkonderzoeken een positieve PCR uitslag (McQuiston et al 2005). In een onderzoek van McQuiston and Childs (2002) wordt echter beschreven dat de gemiddelde seroprevalentie op dierniveau 3.4% was.

e. Tsjechië

In een onderzoek op 14 bedrijven varieerde de seroprevalentie (CBR-test) tussen 4 en 19% (Literak and Kroupa 1998).

f. Verenigd Koninkrijk

Tankmelkmonsters afkomstig van 373 at random geselecteerde bedrijven uit Wales en Engeland zijn onderzocht m.b.v. een ELISA (Paiba et al 1999). Daarbij was 21% van de monsters positief op afweerstoffen.

g. Frankrijk

In Frankrijk zijn verschillende serologische studies uitgevoerd bij runderen, schapen en geiten. Mede omdat de selectie van dieren en de wijze van diagnostiek verschillend was, is er een wijde range van de prevalenties. De uiterste waarden van de prevalenties op dierniveau zijn bij rundvee, schapen en geiten respectievelijk 1-15%, 0-20% en 2-12%; op koppelniveau zijn deze waarden 39-73%, 0-89% en 10-40% (Fièvre Q rapport 2004).

h. Duitsland

In Duitsland is Q fever bij dieren meldingsplichtig. Er is een toenemend aantal jaarlijks besmette bedrijven met herkauwers gemeld, van gemiddeld 71 bedrijven per jaar in de 70-er jaren, tot 303 bedrijven per jaar in de 90-er jaren (Hellenbrand et al 2001).

Geconcludeerd mag worden dat de resultaten van de onderzoeken in de genoemde landen verschillend zijn, zowel op dier- als op koppelniveau. Het is echter nauwelijks mogelijk om de diverse onderzoeken goed met elkaar te vergelijken, omdat de wijze van selectie van bedrijven (en dieren) en/of de diagnostische testen verschillend waren. Daarnaast zijn weinig tot geen gegevens beschikbaar over de eigenschappen (sensitiviteit en specificiteit) van de gebruikte testen. Desondanks kan gesteld worden dat *Coxiella burnetii* wereldwijd waarschijnlijk in verschillende mate voorkomt bij runderen.

## Hoofdstuk 6: Aanpak besmette bedrijven

De aanpak van besmette bedrijven zou in het algemeen uit meerdere onderdelen kunnen bestaan, zoals (a) vaccinatie, (b) het gebruik van antibiotica, (c) het opsporen en afvoeren van besmette dieren, en (d) algemene maatregelen en maatregelen in het kader van de volksgezondheid.

### Vaccinatie

Vaccins tegen Q fever kunnen in 2 groepen worden verdeeld, namelijk in vaccins die gebaseerd zijn op de Fase I of II van de bacterie. Beide groepen vaccins kunnen gemaakt zijn van hele bacteriën of bacteriefracties. De resultaten van het toepassen van de vaccins waren niet altijd hetzelfde. Daarbij werden er soms ernstige reacties op de injectieplaats waargenomen (Aitken 1989).

#### 1. Rund

Na vaccinatie met een Fase I vaccin is nagegaan of dit invloed had op de mate van uitscheiding van *C. burnetii* in de melk (Biberstein et al 1977). Bij de niet-gevaccineerde dieren bleek 24% uitscheider te zijn na besmetting, bij de gevaccineerde runderen was dit 1%. Een vermindering van de uitscheiding is ook aangetoond in een ander onderzoek, waarbij tevens een bescherming tegen het optreden van abortus werd aangegeven (Behymer et al 1976). Na vaccinatie bleven de titers gedurende tenminste 20 maanden 4x hoger dan bij niet-gevaccineerde runderen (Behymer et al 1975). Bij runderen zijn Fase I en Fase II vaccins nog niet met elkaar vergeleken. Verwacht mag worden dat, net als bij geiten, Fase I vaccins het meest effectief zijn (Fièvre Q rapport 2004).

#### 2. SchaaP/Geit

Twee maanden voor het dekseizoen zijn 17 geiten gevaccineerd met een geïnactiveerd Fase I vaccin (Coxevac®; CEVA Sante Animale) en 16 geiten met een geïnactiveerd Fase 2 vaccin (Chlamyvac® FQ; combinatievaccin met *Chlamydomytila abortus* van Merial). Daarnaast was er een niet-gevaccineerde controlegroep. Op 84 dagen dracht zijn de geiten geïnfecteerd met *C. burnetii* bacteriën. Het Fase I vaccin verminderde zowel het aantal abortusgevallen als de excretie van kiemen in de melk sterk. Het Fase II vaccin beïnvloedde het percentage abortus en de excretie in de melk niet (Arricau-Bouvery et al 2005).

Ooien van 17 maanden zijn gevaccineerd met een Fase II vaccin. Dit verminderde de uitscheiding van de kiemen via de placenta, amnionvloeistof en biest, maar voorkwam uitscheiding niet geheel (Brooks et al 1986). In de controlegroep werden in tegenstelling tot de gevaccineerde groep, ook zwakke lammeren geboren.

Combinatievaccins van Q fever en Chlamydia hebben een verbetering gezien van de vruchtbaarheid in geïnfecteerde koppels, maar hadden als nadeel dat het soms ernstige locale ontstekingen veroorzaakte (Krauss 1989).

Geconcludeerd mag worden dat met de huidige kennis geïnactiveerde Fase I vaccins de voorkeur hebben boven geïnactiveerde Fase II vaccins. Voorlopig zijn de resultaten hoopgevend. Er is geen informatie over het effect van vaccinatie op transmissie van de bacterie. Dieren worden seropositief na vaccinatie. Er zijn geen markervaccins/ marker testen beschikbaar. Op dit moment is in Nederland nog geen geregistreerd vaccin voor rundvee beschikbaar. In Frankrijk worden de komende jaren nog een aantal vaccinatieproeven gedaan, om meer duidelijkheid te geven over de inzetbaarheid en effectiviteit van vaccins zowel bij rund, schaaP als geit.

## Antibiotica

*fever* /  
Coxiella burnetii is in vitro gevoelig voor meerdere antibiotica, o.a. tetracyclines en macroliden. Het is in de praktijk erg moeilijk om de effectiviteit in vivo te meten, met name omdat het erg moeilijk is om de kiemen te kweken en te tellen. Mogelijk kan hier een kwantitatieve PCR methode ingezet worden, echter daarmee worden ook afgedode kiemen gedetecteerd.

Bij de behandeling met antibiotica wordt het injecteren van langwerkende oxytetracyclines als de beste aanpak beschouwd, hoewel betwijfeld moet worden of daarmee de uitscheiding via placenta (Woernle et al 1985), vaginale uitvloeiing (Berri et al 2002) en melk (Fièvre Q rapport 2004) voldoende tegengegaan wordt. Bij kleine herkauwers lijkt behandeling met antibiotica op besmette bedrijven nog niet erg effectief (mondelinge mededeling D. Dercksen, GD). Wanneer bij herkauwers antibiotica alleen in het acute stadium effectief zijn (zoals bij mensen) dan is adequate vroegtijdige diagnostiek nodig.

Een orale behandeling met een dosis van 8 mg/kg /dag chloortetracycline gedurende 30 dagen is getest bij 2 drachtige, C. burnetii uitscheidende, koeien (Behymer et al 1977). Bij één rund stopte de uitscheiding in de melk na de 2<sup>e</sup> week van behandelen, bij de andere koe werd de uitscheiding intermitterend. Een orale behandeling van herkauwende runderen met antibiotica is overigens geen gebruikelijke en zelfs ontraden therapie. Daarnaast zou ook zonder antibioticabehandeling een dergelijke intermitterende uitscheiding wel mogelijk zijn.

In Frankrijk wordt momenteel geadviseerd om, indien men besluit om op bedrijven met veel abortussen antibiotica toe te passen, om tijdens de laatste maand van de dracht 2 injecties met 20 mg/kg langwerkend oxytetracycline toe te dienen met een interval 2 weken. Bij uitscheiding in de melk zou een vergelijkbaar schema kunnen worden toegepast op het moment dat de dieren worden drooggezet. Dit behandelingsschema wordt nog geëvalueerd, en zal mogelijk worden aangepast als de resultaten van nieuwe onderzoeken bekend worden (Fièvre Q rapport 2004). De indruk bestaat dat het toedienen van antibiotica op Q fever besmette bedrijven slechts zeer beperkt wordt toegepast in Frankrijk. Gezien de resultaten bij mensen, waar antibiotica alleen in het acute stadium werkzaam zijn, is het de vraag of antibioticum behandeling bij runderen een effectieve behandeling zal zijn.

## Opsporen en afvoeren besmette dieren

Het opsporen en afvoeren van besmette dieren, die kiemen uitscheiden via de excreta (o.a. mest, placenta en vaginale uitvloeiing), is een van de maatregelen om overdracht van kiemen zowel binnen als tussen bedrijven te reduceren of te voorkomen. Directe of aërogene overdracht tijdens de geboorte of abortus spelen een belangrijke rol bij de besmetting van koppelgenoten of dieren uit andere koppels. Deze besmetting kan ook op een later tijdstip plaats vinden omdat de kiem zeer lang persisteert in de omgeving. Het opsporen van uitscheidende dieren is moeilijk, o.a. omdat uitscheiding intermitterend is, dieren langdurig seropositief blijven terwijl ze de kiem niet meer uitscheiden, en ook omdat niet alle dieren seroconverteren. In Frankrijk is bijvoorbeeld bij 60 runderen, die PCR-positief waren in faeces en/of melk en/of vaginale uitvloeiing, nagegaan in welke mate ze positief waren in de 3 genoemde excreta (Guatteo et al 2005). Van de 60 runderen bleek slechts 7% positief te zijn in alle 3 excreta, 15% positief in 2 van de 3 excreta en 78% was PCR-positief in 1 van de 3 excreta.

Het opsporen en afvoeren van uitscheidende runderen heeft een gunstig effect op de infectiegraad van de omgeving, lijkt effectief op bedrijfsniveau (Kloppert et al 2004) en is dus aan te raden.

## Algemene maatregelen

Naast de bovengenoemde maatregelen zijn een aantal algemene maatregelen wenselijk (Woldehiwet 2004; Fièvre Q rapport 2004; Kloppert et al 2004), zoals:

- Algemene hygiëne.
- Het vernietigen van strooisel, dat mogelijk besmet is met baarmoederinhoud (amnionvloeistof, nageboorte, etc.), en dat vrij is gekomen tijdens en na de geboorte.
- Het vernietigen van placenta's en verworpen vruchten. Dit kan gebeuren door verbranding of door het zo snel mogelijk laten ophalen door de kadaverophaaldienst.
- Reinigen en desinfecteren van vloeren, voertuigen en gebruiksvoorwerpen. Daarbij moet wel in ogenschouw worden genomen dat de kiem bestand is tegen veel desinfectantia. Werkzame desinfecteermiddelen moeten gedurende 24-48 uur worden toegepast (Scott and Williams 1990). Werkzame desinfectantia zijn: ethanol, gasvormig formaldehyde, 5% peroxide, 0.05% hypochloriet (OIE). Mest kan behandeld worden met calciumcyanamide 0.6% gedurende 1 week (Arricau-Bouvery et al 2001).
- Het afkalven/aflammeren in een aparte ruimte laten plaatsvinden.
- Geen dieren aankopen en zorgen voor een goede scheiding met dieren van naburige bedrijven.

## Maatregelen in kader volksgezondheid

Landbouwhuisdieren worden in het algemeen beschouwd als de belangrijkste bron van humane infecties (Norlander 2000), alhoewel ook andere diersoorten als reservoir van *C. burnetii* kunnen dienen (Lang 1990).

Gezien het risico voor de mens is het zinvol om meer onderzoek te doen bij humane gevallen van Q fever met als doel om de bron op te sporen, en daarna om verdere verspreiding vanuit die bron te voorkomen. Indien infecties worden vastgesteld, waarbij uitscheiding van kiemen optreedt of zeer waarschijnlijk is, is het gewenst om maatregelen te nemen om humane infecties zoveel mogelijk te voorkomen. Belangrijk is met name een optimale hygiëne rond het afkalven en aflammeren. Zwangere vrouwen moeten uiteraard deze "activiteiten" vermijden.

Omdat de kiem ook in melk wordt uitgescheiden, zou alle melk gepasteuriseerd moeten worden. Hierbij kan gerefereerd worden aan de eisen die in Frankrijk aan besmette bedrijven gesteld worden (zie verslag ACERSA). Van het onderzoek dat is gedaan naar de effectiviteit van pasteurisatie-effecten zijn echter slechts summere beschrijvingen te vinden.

In meerdere landen wordt Q fever als een beroepsziekte gezien (voor veehouders, slachthuispersoneel, veterinairen, andere agrarische beroepen, plattelandspopulaties). In Australië bijvoorbeeld wordt in een centraal register voor alle risicogroepen bijgehouden of mensen seropositief en al dan niet gevaccineerd zijn.

## Hoofdstuk 7: Preventie

Ter preventie moet gedacht worden aan het voorkomen van infecties bij mens en dier. Besmetting met *C. burnetii* kan aërogeen (aërosolen van ingedroogde faeces en vruchtwater), door opname van geïnfecteerde nageboorte, vaginale uitvloeijing, contact met besmette wol of huiden, of door consumptie van besmette melk of kaas.

De kiemen kunnen met de wind over grotere afstanden overgebracht kunnen worden. In een Frans onderzoek werden humane gevallen geassocieerd met een mistral wind die een maand eerder had plaats gevonden in een periode kort na aanvang van het lammerseizoen (Tissot-Dupont et al 2004). Mogelijk kan de ziekte tussen dieren ook over grotere afstand via de wind worden overgebracht.

Deze wijze van overdracht betekent dat voorkomen moet worden dat dieren grote hoeveelheden kiemen uitscheiden, die vervolgens via direct contact of aërogeen overgebracht kunnen worden naar andere dieren of mensen. Risico's op infecties op bijvoorbeeld kinderboerderijen en zorgboerderijen zouden moeten worden onderzocht en beperkt.

Een aantal voorwaarden is noodzakelijk om een goede preventie mogelijk te maken:

- a) Meer kennis vergaren over de klinische verschijnselen van Q fever met als doel om geïnfecteerde, uitscheidende runderen in een zo vroeg mogelijk stadium op te kunnen sporen. Daarbij zijn nog veel vragen. Een belangrijke vraag is of uitscheidende runderen vaak klinische verschijnselen, zoals abortus, vertonen of dat het merendeel van deze runderen klinisch gezond is. Indien bijvoorbeeld abortus het belangrijkste klinische verschijnsel is, zou het standaard onderzoeken van geaborteerde moederdieren (serologie in bloed of PCR op vaginaal swab) en/of de geaborteerde vrucht een optie kunnen zijn. Dit gaat uiteraard wel gepaard met hogere onderzoekskosten. Indien echter de uitscheidende runderen geen, of aspecifieke, klinische verschijnselen vertonen (wat heel waarschijnlijk is), dan is het uitsluitend monitoren van de Q fever status op basis van onderzoek van klinisch verdachte runderen geen optie. Op melkveebedrijven kan het monitoren van bedrijven met PCR of afweerstof ELISA op tankmelk dan een goede optie zijn. Wanneer een infectie aangetoond wordt, zou vervolgens het bedrijf protocollair behandeld /onderzocht moeten worden.
- b) Goede en betaalbare diagnostiek implementeren met als doel om geïnfecteerde runderen en bedrijven in een zo vroeg mogelijk stadium op te sporen (en vervolgens aan te pakken), waardoor de kans op verdere verspreiding van de kiem naar mens en dier zoveel mogelijk wordt tegengegaan.
- c) Effectieve en betaalbare behandeling van geïnfecteerde runderen ontwikkelen, met als doel om de uitscheiding van kiemen naar de omgeving (mens, dier) zo snel mogelijk te reduceren of te stoppen. Hierbij kan ook vaccinatie een rol spelen.
- d) Draagkracht voor de aanpak (bij veehouders, dierenartsen, etc) van de ziekte vergroten. Op dit moment is Q fever een onbekende ziekte bij veel dierenartsen en veehouders. Door middel van allerlei communicatiemiddelen (artikelen, lezingen, etc.) moet kennis over het belang van de ziekte bij zowel dier als mens vergroot worden. Op die manier wordt mogelijk de ziekte bij mens en dier in een eerder stadium en ook vaker opgespoord en wordt de draagkracht voor een plan van aanpak van een besmette rundveekoppel vergroot.
- e) Effectieve pasteurisatie melk en melkproducten.

Naast de al eerder genoemde preventieve maatregelen, is het zinvol om aandacht te besteden aan de mogelijke besmetting via sperma, insecten en ratten:

- Mogelijk kan de infectie overgebracht worden via sperma (Kruszewska and Tylewska-Wierzbanska 1997).



- In een Egyptisch onderzoek zijn vlooien onderzocht op meerdere bacteriën waaronder *C. burnetii* (Loftis et al 2006). In 2 vlooien is de bacterie aangetroffen. Ook kan de infectie mogelijk via teken worden overgebracht. In hoeverre de infectie in Nederland ook via insecten wordt overgebracht, is onbekend.
- Van boerderijen afkomstige bruine, wilde ratten zijn serologisch onderzocht op *C. burnetii* (Webster et al 1995). Met name op bedrijven met melkvee en schapen werd de hoogste seroprevalentie (tot 53%) vastgesteld. Op grond van deze resultaten werd gesuggereerd dat wilde ratten mogelijk een reservoir in het Verenigd Koninkrijk vormen voor besmetting met Q fever. Datzelfde geldt voor katten, als predatoren van deze ratten.

## Hoofdstuk 8: Programma's buitenland

### Frankrijk

In Frankrijk is de benadering van de ziekte de afgelopen jaren veranderd (Overleg Parijs, 26-9-2006; zie Bijlage 1). In 1997 moest bij een klinische uitbraak de melk bij 85 graden Celsius gedurende 30 seconden gepasteuriseerd worden en daarnaast de hele koppel geslacht worden. In 2004 is de regeling veranderd. De runderen hoeven niet meer geslacht te worden. Het pasteuriseren van de melk bleef gehandhaafd, maar wel bij een lagere temperatuur (72 graden Celsius) en gedurende 15 seconden. Verwacht wordt dat in de komende jaren door ACERSA een nieuwe regeling wordt ingevoerd voor het diagnosticeren en de aanpak van geïnfecteerde bedrijven. Zie verder Bijlage 1 (Overleg Parijs, 26-9-2006).

### Duitsland

In Duitsland is een werkgroep bezig een plan van aanpak op te stellen voor besmette bedrijven. Er loopt voor zover bekend echter in tegenstelling tot Frankrijk geen nader onderzoek. In de deelstaat Hessen is een plan van aanpak voor bedrijven waar rauwe melk of rauwmelkse kaas geproduceerd wordt (Kloppert et al 2004). In deze deelstaat was in de jaren tachtig een hoge seroprevalentie vastgesteld op rundveebedrijven. Deze bedrijven moeten jaarlijks een tankmelk PCR laten uitvoeren. Wanneer met PCR *C. burnetii* aangetoond wordt, worden diverse maatregelen genomen. Afhankelijk van de situatie wordt een pakket maatregelen vastgesteld dat kan bestaan uit: serologisch onderzoek van alle dieren, PCR onderzoek van individuele melkmonsters, vernietiging van de kaasvoorraad, geen verkoop van rauwe melk, alleen productie van kaas die langer dan 60 dagen moet rijpen; alleen kaas maken van gepasteuriseerde melk, soms slachten van dieren onder toezicht of zelfs vernietiging van dieren. Daarnaast worden een aantal maatregelen vastgesteld om besmetting op het bedrijf zelf te beperken zoals afkalfhygiëne en gereguleerde mestafvoer. Gebleken is dat door dergelijke maatregelen (inclusief het ruimen van dieren) de besmetting snel af kan nemen. De effectiviteit van de afzonderlijke maatregelen is niet bekend.

gekoppeld aan rieprijbaai beek

## Hoofdstuk 9: Hiaten in bestaande kennis

Het onderzoek heeft geleerd dat er nog al wat kennishiaten kunnen worden geïdentificeerd. Afhankelijk van de wensen en ambities zouden deze op de volgende wijze kunnen worden ingevuld voor de Nederlandse situatie:

- Meer kennis ontwikkelen over de klinische verschijnselen van de ziekte bij runderen.
- Diagnostische methoden valideren. De diverse testen moeten op dierniveau met elkaar worden vergeleken. Meer kennis is daarbij nodig over de mate en tijdsperiode van uitscheiding van *C. burnetii* via de verschillende excreta. Doel van diagnostiek moet zijn om op een kosteneffectieve manier risicobedrijven en risicorunderen te identificeren om zo de risico's voor verdere verspreiding tegen te gaan en besmetting van mensen (risicogroepen) te voorkomen. Er moet worden onderzocht in hoeverre de bestaande testen (ELISA en PCR) op koe en bedrijfsniveau een risicostatus van een bedrijf kunnen aangeven. Bijvoorbeeld: in hoeverre zegt het niveau van de afweerstoffen in de tankmelk iets over de kans op uitscheiding van de kiem. Verder moet worden uitgezocht welk materiaal (serum, melk individuele runderen, tankmelk, faeces, geaborteerde foetussen, vaginaal swabs na afkalven, etc.), het meest geschikt is om besmette dieren en bedrijven op te sporen en te monitoren.
- Onderzoek uitvoeren naar verspreiding van Q fever tussen koppels en tussen de verschillende diersoorten (rond, schaap, geit) om richting te geven aan effectiviteitsstudies in de bestrijding van Q fever.
- Uitvoeren van effectiviteitsstudies (epidemiologisch en economisch) van vaccins en behandelingen met antibiotica, en ontwikkelingen in het buitenland hierover volgen.
- Uitvoeren van effectiviteitsstudies (epidemiologisch en economisch) van diverse interventie maatregelen op management niveau zoals: mestbehandeling, ontsmetten, opruimen van uitscheiders, desinfecteren van de afkalfruimte; en de ontwikkelingen in het buitenland hierover vervolgen.
- De kennis van Q fever binnen de Nederlandse rundveewereld (dierenartsen, veehouders, etc.) vergroten. Daardoor wordt mogelijk meer verdacht materiaal voor onderzoek aangeboden, waardoor ook meer inzicht wordt verkregen in de prevalentie van de ziekte, de klinische verschijnselen, en de economische schade.

Als bovenstaande kennisleemtes opgevuld zijn, is het desgewenst mogelijk een protocol te maken voor het monitoren van de ziekte in Nederland en voor de aanpak van de ziekte op een besmet bedrijf. Gezien de kennis die al aanwezig is in Frankrijk, is het gewenst om hierbij nauw samen te werken met de Franse overheid- en landbouworganisaties.

Bovenbeschreven vraagstukken hebben betrekking tot het primaire rundveebedrijf. De kennishiaten op andere gebieden die zijn in dit onderzoek geconstateerd (zuivel, humaan, andere diersoorten) zijn hier niet verwoord in mogelijke onderzoeksvragen of andere acties.

Directie van onderzoek

risico factor voor verspreiding

nieuwe informatie over ziekte en verspreiding!!

Participatie: dood de baak Reggeer mev. want regels te geven!!!

Basisskollen verder naar (andere groep) Niet te twaak in de heden

## Hoofdstuk 10: Literatuur

- Aitken, I.D., *Clinical aspects and prevention of Q fever in animals. Eur J Epidemiol.* 1989 Dec; 5(4): 420-4.
- Arricau Bouvery N., Souriau A., Lechopier P., Rodolakis A. *Experimental Coxiella burnetii infection in pregnant goats: excretion routes. Vet. Res.* 34 (2003) 423-433.
- Arricau-Bouvery, N., Souriau, A. Moutoussamy, A. Ladenise, K. Rodolakis, A. 2001b. *Etude de l'excrétion de Coxiella burnetii dans un modèle expérimental caprin et décontamination des lisiers par le cyanamide calcique. 8<sup>ème</sup> Rencontres Recherches Ruminants.* 153-156. Paris.
- Arricau-Bouvery N., Souriau A., Bodier C., Dufour P., Rousset E., Rodolakis A. *Effect of vaccination with phase I and phase II Coxiella burnetii vaccines in pregnant goats. Vaccine,* 2005 Aug 15; 23 (35): 4392-402.
- Arricau-Bouvery N., Hauck Y., Bejaoui A., Frangoulidis D., Bodier C.C., Souriau A., Meyer H., Neubauer H., Rodolakis A., Vergnaud G. *Molecular characterization of Coxiella burnetii isolates by infrequent restriction site-PCR and MLVA typing. BMC Microbiology* 2006, 6-38.
- Babudieri, B. 1959. *Q fever: a zoonosis. Adv.Vet.Sci.* 5, 82-182.
- Bartelink A.K., Stevens H., Kregten E. van, Meijer J.G., Beeres M.P., Deuren M. van. *Acute and chronic Q fever; epidemiology, symptoms, diagnosis and therapy of infection caused by Coxiella burnetii. Ned. Tijdschr. Geneeskd.* 2000 Jul. 1; 144 (27): 1303-6.
- Behymer, D.E., Biberstein, E.L., Riemann, H.P., Franti, C.E., Sawyer, M., Ruppanner, R., Crenshaw, G.L. 1975. *Q fever (Coxiella burnetii) investigations in dairy cattle: challenge of immunity after vaccination. Arn.J.Vet.Res.* 37(6), 631-634.
- Behymer, D., Ruppanner, R., Riemann, H.P., Biberstein, E.L., Franti, C.E. *Observation on chemotherapy in cows chronically infected with coxiella burnetii (Q fever). Folia vet. lat.* 7, 64, 1977.
- Behymer D.E., Ruppanner R., Brooks, D., Williams, J.C., Franti, C.E. *Enzyme immunoassay for surveillance of Q fever. Am J Vet Res, Vol 46, No 11, November 1985: 2413-2417.*
- Berri M., Laroucau K., Rodolakis A. *The detection of Coxiella burnetii from ovine genital swabs, milk and fecal samples by the use of a single touchdown polymerase chain reaction. Vet microbial.* 2000 Mar 15; 72(3-4): 285-93.
- Berri M., Souriau A., Crosby M., Crochet, D., Lechopier P., Rodolakis A. *Relationships between the shedding of Coxiella burnetii, clinical signs and serological responses of 34 sheep. The Veterinary Record,* April 21, 2001; 502-505.
- Berri M., Souriau A., Crosby M., Rodolakis A. *Shedding of Coxiella burnetii in ewes in two pregnancies following an episode of Coxiella abortion in a sheep flock. Veterinary Microbiology* 85 (2002); 55-60.
- Berri, M. Rousset E., Hechard C., Champion J.L., Dufour P., Russo P., Rodolakis A. *Progression of Q fever and Coxiella burnetii shedding in milk after an outbreak of enzootic abortion in a goat herd. The Veterinary Record* (2005), 156, 548-549.
- Biberstein, E.L., Riemann, H.P., Franti, C.E., Behymer, D.E., Ruppanner, R., Bushnell, R., Crenshaw, G. 1977. *Vaccination of Dairy Cattle Against Q Fever (Coxiella burnetii): Results of Field Trials. Am J Vet Res* (38) 2, 189-193.
- Brooks, D.L., Ermel, R.W., Franti, C.E., Ruppanner, R., Behymer, D.E., Williams, J.C., Stephenson, E.H. *Q fever vaccination of sheep : challenge of immunity in ewes. Am J Vet Res.* 1986 Jun ; 47(6) : 1235-8.

- Cabassi, C.S., Taddei, S., Donofrio, G., Ghidini, F., Piancastelli, C., Flammini, C.F., Cavirani, S. Association between *Coxiella burnetii* seropositivity and abortion in dairy cattle of Northern Italy. *New Microbiol.* 2006 Jul; 29(3): 211-4.
- Capuano F., Landolfi M.C., Monetti D.M. Influence of three types of farm management on the seroprevalence of Q fever as assessed by an indirect immunofluorescence assay. *Vet Rec.* 2001 Dec. 1; 149 (22): 669-71.
- Capuano F., Parisi A., Cafiero M.A., Pitaro L., Fenizia D. *Coxiella burnetii*: what is the reality? *Parassitologia*, 2004 Jun; 46 (1-2): 131-4.
- Carrieri M.P., Tissot-Dupont ., Rey D., Brousse P., Renard H., Obadia Y., Raoult D. Investigation of a slaughterhouse-related outbreak of Q fever in the French Alps. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002 Jan; 21 (1): 17-21.
- Cerf O., Condron R. *Coxiella burnetii* and milk pasteurization: an early application of the precautionary principle? *Epidemiol. Infect.*; 1-6. 2006 Cambridge University Press
- Cetinkaya B., Kalender H., Ertas H.B., Muz A., Arslan N., Ongor H., Gurcay M. Seroprevalence of coxiellosis in cattle, sheep and people in the east of Turkey. *Vet Rec.* 2000 Jan 29; 146 (5): 131-6.
- Cowley R., Fernandez F., Freemantle W., Rutter D. Enzyme Immunoassay for Q fever: comparison with CFT and Immunofluorescence Tests and Dot Immunoblotting 1992. *J. Clin. Microbiol* 30 (9) 2451-2455.
- Derrick E.H. 1937. " Q " fever, a new fever entity: clinical features, diagnosis and laboratory investigation. *Med J Aust*, 2, 281-299.
- Durand, M.P., Limouzin, C. 1983. Un problème d'hygiène alimentaire : à propos du risque potentiel du lait de vaches infectées par *Coxiella burnetii* sur la santé humaine. *Bull.Acad.Natl.Vet.* 56, 475-485.
- Fievre Q rapport, 2004, in bijlage.
- Fournier P-E. Marrie T.J., Raoult D. Diagnosis of Q fever. *Journal of Clinical Microbiology*, July 1998, 1823-1834.
- Gageldonk-Lafeber van, A.B., Koopmans MPG, Bosman A., Heijnen M.A 2003. Het voorkomen van Q-koorts in Nederland. *Infectieziekten Bulletin* 14, (5) 173-177.
- Guatteo, R., Beaudeau, F., Descarsin, V., Sellal, E., Rodolakis, A., Joly, A., Seegers, H. Fièvre Q: excretion mammaire, vaginale et fécale. *Le Point Vétérinaire*, No. 258, Août-septembre 2005.
- Harris R.J., Storm P.A., Lloyd A., Arens M., Marmion B.P. Long-term persistence of *Coxiella burnetii* in the host after primary Q fever. *Epidemiol. Infect.* (2000), 124, 543-549.
- Hatchette T.F., Hudson R.C., Schleich W.F., Campbell N.A., Hatchette J.E., Ratnam S., Raoult D., Donovan C., Marrie T.J. Goat-Associated Q Fever: A New Disease in Newfoundland. *Emerging Infectious Diseases*, Vol. 7, No. 3, May-June 2001; 413-419.
- Hatchette T., Campbell N., Whitney H., Hudson R., Marrie T.J. Seroprevalence of *Coxiella burnetii* in selected populations of domestic ruminants in Newfoundland. *The Canadian Veterinary Journal*, 2002. May; 43 (5): 363-364.
- Hellenbrand W., Breuer T., Petersen L. Changing Epidemiology of Q Fever in Germany, 1947-1999. *Emerging Infectious Diseases*, Vol. 7, No. 5, September-October 2001; 789-796.
- Henning K., Sting R. 2002. Aussagefähigkeit von Stamp-Färbung, Antigen-ELISA, PCR und Zellkultur zum Nachweis von *Coxiella burnetii*. *Berl. Munch. Tierärztl. Wschr* 115, 381-384.
- Hirai A., Kaneko S., Nakama A., Ishizaki N., Odagiri M., Kai A., Sadamasu K., Shinkai T., Yano K., Morozumi S. Investigation of *Coxiella burnetii* contamination in commercial

- milk and PCR method for the detection of *C. burnetii* in egg. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*, 2005 Jun; 46 (3): 86-92.
- Ho, T., Htwe, K.K., Yamasaki, N., Zhang, G.Q., Ogawa, M., Yamaguchi, T., Fukushi, H., Hirai, K. Isolation of *Coxiella burnetii* from Dairy Cattle and Ticks, and Some Characteristics of the Isolates in Japan. *Microbiol. Immunol.*, 39(9), 663-671, 1995
  - Houwers D.J., Richardus J.H. Infections with *Coxiella burnetii* in Man and Animals in the Netherlands. *Zbl. Bakt. Hyg. A* 267, 30-36 (1987).
  - Interdepartementale werkgroep zoonosen. Advies Q-koorts. Januari 1999.
  - Jorm L.R., Lightfoot N.F. Morgan K.L. 1990. An epidemiological study of an outbreak of Q fever in a secondary school. *Epidemiol. Infect.* 104 (3) 467-66.
  - Kim S.G., Kim, E.H., Lafferty C.J., Dubovi E. *Coxiella burnetii* in Bulk Tank Milk Samples, United States. *Emerging Infectious Diseases*, Vol. 11, No. 4, April 2005; 619-621.
  - Kloppert B., Wolter W., Zschöck, M., Kabisch, D., Hamann, H.-P., Frost, J.W. *Coxiella burnetii* als Zoonoseerreger unter besonderer Berücksichtigung der Lebensmittelhygiene. *Dtsch. tierärztl. Wschr.* 111, 301-140, Heft 8, August 2004.
  - Komiya T., Sadamasu K., Kang MI, Tsuboshima S., Fukushi H. Hirai K. Seroprevalence of *Coxiella burnetii* infections among cats in different living environments. *J Vet Med Sci.* 2003 Sep; 65(9): 1047-8.
  - Kovacova E., Kazar J. Q fever – still a query and underestimated infectious disease. *Acta Virol.* 2002; 46 (4): 193-210.
  - Krauss, H. Clinical aspects and prevention of Q fever in animals. *Eur J Epidemiol.* 1989 Dec; 5(4): 454-5.
  - Kruszewska D., Tylewska-Wierzbanska S. Isolation of *Coxiella burnetii* from bull semen. *Res Vet Sci.* 1997 May-Jun; 62(3): 299-300.
  - Lang, G.H. 1990. *Coxiellosis (Q fever) in animals*. Marrie, T.J. *Q fever*, vol. 1 The disease. Boca Raton, Fla, CRC Press.
  - Literak, I., Kroupa, L. Herd-level *Coxiella burnetii* seroprevalence was not associated with herd-level breeding performance in Czech dairy herds. *Prev Vet Med.* 1998 Jan; 33(1-4): 261-5.
  - Loftis A.D., Reeves W.K., Szumlas D.E., Abbassy M.M., Helmy I.M., Moriarity J.R., Dasch G.A. Surveillance of Egyptian fleas for agents of public health significance: *Anaplasma*, *Bartonella*, *Coxiella*, *Ehrlichia*, *Rickettsia*, and *Yersinia pestis*. *Am J Trop Med. Hyg.* 2006 Jul; 75(1): 41-8.
  - Lorenz, H., Jäger, C., Willems, H., Baljer, G. PCR Detection of *Coxiella burnetii* from Different Clinical Specimens, Especially Bovine Milk, on the Basis of DNA Preparation with a Silica Matrix. *AEM*, November 1998, p. 4234-4237, Vol. 64, No. 11
  - Lukacova M., Melnicakova J., Kazar J. Cross-reactivity between *Coxiella burnetii* and *Chlamydiae*. *Folia Microbiol (Praha)* 1999; 44(5): 579-84.
  - Maramatsu Y., Yanase T., Okabayashi T., Ueno H, Morita C. Detection of *Coxiella burnetii* in cow's milk by PCR-enzyme-linked immunosorbent assay combined with a novel sample preparation method. *Appl. Environ Microbiol.* 1997 Jun; 63 (6): 2142-6.
  - Masala G., Porcu R., Sanna G., Chessa G., Cillara G., Chisu, V., Tola S. Occurrence, distribution, and role in abortion of *Coxiella burnetii* in sheep and goats in Sardinia, Italy. *Veterinary Microbiology* 99 (2004) 301-305.
  - McQuiston J.H., Childs J.E. Q fever in humans and animals in the United States. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2002 Fall; 2 (3): 179-91.
  - McQuiston, J.H., Nargund, V.N., Miller, J.D., Priestley, R., Shaw, E.I., Thompson, H.A. Prevalence of antibodies to *Coxiella burnetii* among veterinary school dairy herds in the United States, 2003. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2005 Spring; 5(1): 90-1.

- Norlander, L. 2000. *Q fever epidemiology and pathogenesis. Microbes Infect.* 2(4), 417-424.
- Orr H., Christensen H., Smyth B., Dance D., Carrington D., Paul I., Stuart J. 2006. *Case-control study for risk factors for Q Fever in southwest England and Northern Ireland. Euro Surveill* 11 (10) .
- Paiba G.A., Green, L.E., Lloyd G., Patel D., Morgan K.L. *Prevalence of antibodies to Coxiella burnetii (Q fever) in bulk tank milk in England and Wales. The Veterinary Record, May 8, 1999 (144), 519-522.*
- Paiba G.A., Patel D., Green L.E., Morgan K.L. *Prevalence of antibodies to coxiella burnetii in bulk milk samples in England and Wales. Epidémiol. santé anim., 1997, 31-32.*
- Parker N.R. , Barralet J.H., Bell A.M. *Q fever. Lancet* 2006, 367 (9511) 679-88.
- Parisi, A., Fracalvieri, R., Cafiero, M., Miccolupo, A., Padalino, I., Montagna, C., Capuano, F., Sottili, R. *Diagnosis of Coxiella burnetii-related in Italian domestic ruminants using single-tube nested PCR. Veterinary Microbiology* 118 (2006) 101-106.
- Pinsky R.L., Fishbein D.B., Greene C.R., Gensheimer K.F. *An outbreak of cat-associated Q fever in the United States. J Infect Dis.* 1991 Jul; 164(1): 202-4.
- Plommet, M., Capponi, M., Gestin, J., Renoux, G. 1973. *Fièvre Q expérimentale des bovins. Ann.Rech.Vet.* 4(2), 325-346.
- *Rapportage specifieke monitoring 2005-2006, GD 2006. In opdracht van Begeleidingscommissie Monitoring Rundvee.*
- Richardus J.H. *Q koorts in Nederland-alom onbekend- 1998. Infectieziekten Bulletin* 9 (1)
- Schaal E. *Vorkommen von Coxiella burneti in Nahrungsmitteln tierischer Herkunft. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 90, 376-379 (1977).
- Schaal E. *Die hygienische Bedeutung von Rickettsien (Coxiella burneti) in Lebensmitteln tierischer Herkunft. Dtsch Med Wschr* 97 669-704
- Schmeer S. *Enzymimmuntest (ELISA) zum Nachweis von IgG<sub>1</sub>-, IgG<sub>2</sub>- und IgM-Antikörpern bei der Q-Fieber-Infektion des Rindes. Zbl. Bakt. Hyg. A* 259, 20-34 (1985).
- Scola la, B., Lepidi, H., Raoult, D. *Pathologic Changes during Acute Q Fever: Influence of the Route of Infection and Inoculum Size in Infected Guinea Pigs. Infection and Immunity, June 1997, p. 2443-2447, Vol. 65, No. 6.*
- Scott, G.H., Williams, J.C. 1990. *Susceptibility of Coxiella burnetii to chemical disinfectants. Ann.N.Y.Acad.Sci.* 590, 291-296.
- Stevens H., Beeres M.P., Meijer J.G., Koeman J. Kregten E. van, Bartelink A.K. *Q fever: not just in sheep. Ned. Tijdschr. Geneeskd.* 2000 Jul 1; 144 (27): 1297-300.
- Sting R., Breitling N., Oehme R., Kimmig P. *The occurrence of Coxiella burnetii in sheep and ticks of the genus Dermacentor in Baden-Wuerttemberg. Dtsch Tierarztl Wochenschr.* 2004 Oct; 111 (10): 390-4.
- Sting R., Kopp J., Mandl J. Seeh C. Seemann G., Kimmig P., Schmitt K., Mentrup T. *Studies of Coxiella burnetii infections in dairy herds with special regard to infections in men. Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 2002 Sep-Oct; 115 (9-10): 360-5.
- Sting R., Simmert J., Mandl J., Seemann G., Bay F., Muller K.F., Schmitt K., Mentrup T. *Coxiella burnetii infections and infections with bacteria of the genus Chlamydia in dairy cattle. Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 2000 Nov-Dec; 113 (11-12): 423-30.
- Tainturier, D. 1987. *Métrites en série chez la vache provoquées par la fièvre Q. Recueil Med.Vet.* 163, 195-198
- Tissot-dupont H., Amadei M.A., Nezri M., Raoult D. *Wind in November, Q fever in December. Emerg Infect. Dis.* 2004 Jul; 10(7): 1264-9.
- To H., Htwe K.K, Kako N., Kim H.J., Yamaguchi T., Fukushi H., Hirai K. *Prevalence of Coxiella burnetii infection in dairy cattle with reproductive disorders. J Vet Med Sci* 1998 Jul; 60 (7): 859-61.

- Veerdonk van de, F.I., Blaauw G., Schneeberger P.M, Festen H.P.M. 2003. *Q* koorts blijft diagnostische en therapeutische vragen oproepen. *Infectieziekten Bulletin* 14 (5) 177-180.
- Warris-Versteegen A.A. 2003. *Q* koorts opnemen in de differentiaaldiagnose. *Infectieziekten Bulletin* 14 (5) 181.
- Webster J.P., Lloyd G., Macdonald D.W. *Q* fever (*Coxiella burnetii*) reservoir in wild brown rat (*Rattus norvegicus*) populations in the UK. *Parasitology* 1995 Jan; 110 (Pt 1): 31-5.
- Wittenbrink, M.M., Gefaller, S., Failing, K., Bisping, W. The effect of herd and animal factors on the detection of complement-binding antibodies against *Coxiella burnetii* in cattle. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 1994 Jun; 107(6): 185-91.
- Woernle, H., Limouzin, C., Muler, K., Durand, M.P. 1985. La fièvre *Q* bovine. Effet de la vaccination et de l'antibiothérapie sur l'évolution clinique et l'excrétion de *Coxiella burnetii* dans le lait. *Bull.Acad.Natl.Vet.* 58, 91-100.
- Woldehiwet Z. <sup>a</sup> *Q* fever (coxiellosis): epidemiology and pathogenesis. *Research in Veterinary Science* 77 (2004) 93-100.
- Woldehiwet Z. <sup>b</sup> Erratum to: *Q* fever (coxiellosis): epidemiology and pathogenesis [Research in Veterinary Science 77 (2) 93-100]. *Research in Veterinary Science* 77 (2004) 269.
- Yuasa Y., Yoshiie K., Takasaki T., Yoshida H., Oda H. 1996. Retrospective survey of chronic *Q* fever in Japan by using PCR to detect *Coxiella burnetii* DNA in paraffin-embedded clinical samples. *J Clin Microbiology* 34 (4) 824-827.



## Bijlage 1

**Q fever, Project nr. 1080083.**

**Bezoek aan ACERSA, FNGDSB en CNIEL te Parijs 26-9-2006**

### Nederlandse delegatie

### Franse delegatie

- CNIEL = Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière. Ze behartigen de belangen van zowel de zuivelproducenten (veehouders) als de zuivelfabrieken.
- ACERSA = Association pour la Certification de la Santé Animale en Elevage. Dit is een certificerende instelling. De lopende certificeringprogramma's zijn maedi/visna, IBR en Runderhorzel. Ze hebben dossiers van Paratbc en BVD, en ze ontwikkelen nu een Q fever dossier.
- FNGDSB: Fédération Nationale de Groupements de Défense Sanitaire de Bétail. Ze houden zich bezig met de bestrijding van dierziekten, departementaal georganiseerd in GDS.

### Doel van het bezoek

Welke kennis en ontwikkelingen zijn er in Frankrijk m.b.t. Q fever bij het rund?

### Belang van Q fever voor de Franse zuivel

- CNIEL geeft aan dat afgelopen jaar een grote Engelse afnemer garanties had gevraagd betreffende Q fever. Op basis van wat in het Franse AFSA rapport (2004) staat inzake transmissie (transmissie vindt vooral aërogeen en niet via drinken van melk of andere melkproducten plaats) en warmte inactivatie, is afnemer tot tevredenheid geïnformeerd.
- De wetenschappelijke gegevens over het effect van warmtebehandeling op het afdoden van *Coxiella burnetii* zijn gedateerd (uit de jaren 50). Het updaten van deze gegevens lijkt gewenst. De Fransen aarzelen om hier actie in te ondernemen in verband met de grote belangen van de consumptie van rauwmelkse producten.
- CNIEL voelt zich met AFSA rapport 2004 voor het moment voldoende safe wat betreft de consumptie van melk. Er zijn geen gegevens bekend dat mensen ziek zijn geworden door het drinken van (rauwe) melk.
- Q fever wordt nu vooral gezien als beroepsziekte. Er bestaat een risico voor veehouder, zijn familie en eventuele medewerkers. Dit is de communicatieve insteek worden.

### AFSA Rapport 2004

AFSA rapport is opgesteld naar aanleiding van een grote Q fever uitbraak in 2002 in de omgeving van Chamonix. Daar waren circa 100 Q fever gevallen bij de mens, waarvan een deel ernstig, die gerelateerd waren aan vee. De ziektegevallen waren niet direct gerelateerd aan het consumeren van dierlijke producten, maar aan direct of indirect contact met dieren. Hierbij werd o.a. gedacht aan het wandelen in de directe omgeving van dieren.

Het AFSA rapport doet aanbevelingen over de aanpak van de ziekte op besmette bedrijven alsmede certificatie van melkveebedrijven.

#### Franse regelgeving inzake Q fever op veehouderijbedrijven

- In 1997 is er een richtlijn opgesteld naar aanleiding van een klinische uitbraak. Deze bestond uit het verplicht pasteuriseren van de melk bij 85 graden Celsius gedurende 30 seconden en het slachten van de hele koppel.
- In 2004 is de regeling aangepast op basis van het AFSA rapport (comité microbiologique). In de nieuwe regeling hoeven geen dieren meer te worden geslacht en wordt een pasteurisatietijd- en lengte van 72 graden Celsius gedurende 15 secondes als voldoende beschouwd.  
Met andere woorden: er is op bedrijven met Q fever wel een verbod op rauwmelkse producten en dit telt zwaar in Frankrijk.
- Indien er nu klinische gevallen worden vastgesteld, moet de melk van dit bedrijf gepasteuriseerd worden. De koppel hoeft niet meer geslacht te worden. Indien in de tankmelk 2x met 2 weken tussentijd geen verwekker wordt aangetoond (agens detectie dmv PCR), wordt het bedrijf weer vrij verklaard en hoeft daarna niet meer opnieuw getest te worden. Bedrijven zijn echter in een aantal gevallen heel lang PCR positief.
- De gevolgen van deze regeling waren (en zijn nog steeds) zodanig streng dat er geen meldingen van klinische gevallen meer kwamen/komen.

#### Aanpak op besmette bedrijven

- Doel van dit plan van aanpak op besmette bedrijven is dat het als alternatief voor de regelgeving 2004 kan gelden (Franse LNV is om die reden dan ook betrokken bij dossiervorming) en dat het ook toegepast kan worden op de rauwmelkse bedrijven.
- ACERSA is gestart met het definiëren van een besmet bedrijf. De definitie is gebaseerd op het klinische verschijnsel verwerpen. Zonder abortus is er geen sprake van een klinisch probleem. Op basis van deze definitie wordt een plan van aanpak gemaakt hoe een klinische uitbraak moet worden bestreden (o.a. wordt gedacht aan vaccineren).  
(noot: onderzoek op Q fever van verwerpers; bloed en/of vrucht is goed uitvoerbaar)
- Technisch inhoudelijk moet het ACERSA Q fever dossier begin 2007 klaar zijn.
- Er zijn nog geen besluiten genomen over de handelwijze voor aankoop en verkoop van levende dieren.
- Het is de bedoeling om veehouders en praktici meer informatie te verstrekken over de ziekte, met in steek "beroepsziekte".

#### Diagnostiek

- Het door ACERSA op te stellen hoofdstuk over diagnostiek is nagenoeg gereed.

- De diagnostiek op besmette bedrijven (definitie: verwerpen ! ) wordt uitgevoerd d.m.v. de PCR-techniek op foeten, placenta en cervicaal swabs en NIET op tankmelk of bloed: (1) zonder kliniek (verwerpen) geen Q fever en (2) alleen met kliniek wordt hoge uitscheiding verondersteld.
- Alleen serologie geeft naar hun oordeel gelet op de verwachtte hoge besmettingsgraad onvoldoende informatie. Dit wordt altijd laten opvolgen door andere onderzoekstechnieken, mn PCR. Ze hebben zelf gewerkt met de LSI ELISA. Daar hebben ze goede ervaringen mee. Ze hebben echter deze test niet formeel gevalideerd.
- In Frankrijk is een veehouder verplicht om bij abortus bloed, de vrucht en de placenta te laten onderzoeken. Brucellose onderzoek is verplicht, onderzoek op Q fever niet. Dit laatste wordt ook zelden aangevraagd.
- Er zijn 3 fabrikanten van PCR's: LSI, Adiagenes, Scanalyse ( Toulouse ). Acersa verzamelt de technische gegevens. Bij de interpretatie van de PCR wordt meestal gebruik gemaakt van de kwantitatieve bepaling. Bij elke positieve PCR uitslag van een foetus (ongeacht het aantal kiemen), wordt de foetus als besmet beschouwd. Een placenta en een vaginaal swab worden pas als besmet beschouwd indien er meer dan 10.000 kiemen worden aangetoond. Drie swabs kunnen als pool onderzocht worden. De grens (positief/negatief) van het aantal kiemen is dan 1.000.  
Noot: de infectieuze dosis voor de mens ligt ergens rond de 10-100 kiemen!
- Ze hebben 2 PCR's vergeleken (LSI, Adiagenes). Ze vinden geen echte verschillen en beschouwen beide testen als bruikbaar.
- Gedacht wordt aan een testsysteem, waarbij bedrijven moeten worden onderzocht met tenminste 2 abortussen binnen 1 maand. Datzelfde geldt (voor kleine koppels) als er tenminste 3 abortussen zijn in het hele afkalfeizoen. Tabellen voor het interpreteren van de uitslagen worden gemaakt. Daarbij wordt gedacht aan:
  - a. 2x negatieve PCR: geen Q fever.
  - b. 2x positieve PCR: uitslag Q fever.
  - c. 1x PCR positief en 1x PCR negatief. Dan bij 6 koeien (met reproductieproblemen?) serologie uitvoeren. Indien daarbij tenminste 3 koeien positief zijn, is het Q fever. Indien minder dan 3 koeien seropositief zijn, moet de volgende PCR worden afgewacht.
  - d. Indien de eerste vrucht niet is onderzocht, dan kan als alternatief binnen 8 dagen na afkalven een cervicaal swab worden genomen (of serologie tenminste 3 weken na abortus?)

### Uitscheiding in melk

Uit inventariserend onderzoek (gepubliceerd in Pointe Vet ) blijkt dat circa 1/3 deel van de seropositieve runderen ook PCR positief in de melk is. Daarmee lijkt duidelijk dat ook bij niet klinische bedrijven (noot: er is behoefte aan nader kwantificeren) positieve PCR's en dus uitscheiding worden gevonden.

### Vaccins

Er zijn twee type vaccins. Fase 1 en fase 2 vaccins.

In het AFSA rapport 2004 is een vaccinatieproef beschreven met geiten: alleen fase 1 vaccin was daarbij effectief . Fase 2 vaccins bleken niet efficiënt om uitscheiding excretie van Coxiella te voorkomen.

Er is 1 Q fever vaccin toegelaten in Frankrijk.

In Hongarije en Australië wordt een fase 1 vaccin geproduceerd. De Franse firma CEVA heeft de Hongaarse producent van dat fase 1 vaccin gekocht. Er zijn nu overheidssubsidies beschikbaar om dit vaccin experimenteel te testen. Dit fase 1 vaccin is nu voorlopig geregistreerd, CEVA heeft op dit moment wel een probleem met het produceren/opschalen van dit vaccin.

Er worden de komende jaren vaccinatie proeven met het CEVA vaccin uitgevoerd. Het doel van de proeven is om na te gaan of en in welke mate de vaccins de transmissie kunnen reduceren.

Verwacht wordt dat de vaccins de nog onbesmette dieren beschermt, er wordt geen effect op de uitscheiding door besmette dieren verwacht. Verondersteld wordt daarom dat het een generatiewisseling (lang dus) duurt voordat een besmet bedrijf weer vrij is van de kiem en dat dieren meerdere jaren achtereen gevaccineerd moeten worden. De onderzoeken die al uitgevoerd zijn of gepland zijn:

- o Rund. De resultaten van de proeven worden in de zomer van 2007 verwacht. Onderzoek vindt plaats door Nantes in samenwerking met de Union GDS Bretonne ( [@vet-nantes.fr](mailto: @vet-nantes.fr)). Het onderzoek is gebaseerd op een binnenbedrijfsvergelijking.
- o Schaaap. Onderzoek wordt uitgevoerd in Pyrenees Atlantique. Het onderzoek is kleiner van opzet. Het begint in 2007 en het resultaat is bekend in 2008
- o Geit. Onderzoek wordt uitgevoerd in Poitou Charantes en het moet gereed zijn in 2008.

### Behandeling

Aangegeven wordt dat een langwerkend antibioticum (Terramycine LA) gebruikt kan worden in de droogstand. Over het effect van de behandeling zijn nauwelijks gegevens bekend. De ervaringen in de praktijk zijn niet eenduidig. Nader onderzoek zou zijn gewenst.

### Algemeen

- Gedacht wordt dat 60% humane infecties in Frankrijk symptomeloos verloopt. 40% heeft wel symptomen en dan met name griepachtige verschijnselen. 4% ervan heeft wel grotere problemen en daarbij is ziekenhuisopname noodzakelijk.
- Er zijn geen gegevens bestemd over de mogelijke opbouw van immuniteit bij dieren na natuurlijke infectie.
- Bij geiten zijn veel meer seropositieve dieren dan bij rundvee.
- De Fransen vergelijken de aanpak van Q fever wel met die van Chlamydia (abortus, vaccinatie).
- De grootste uitscheiding van kiemen vindt plaats bij een abortus. Die uitscheiding is massaal
- Ze weten niet hoeveel bevestigde Q fever gevallen er zijn geweest bij rundvee, maar geven duidelijk aan dat er wel klinische gevallen zijn geweest.
- Na infectie blijven meeste runderen drager. Het is onvoorspelbaar in welke excreta (faeces, melk, vaginaal swabs) de dieren na infectie gaan uitscheiden. Een of meerdere van deze monsters kan PCR positief zijn. Bijvoorbeeld 20% dieren is alleen in de mest PCR positief.
- Gegevens over de epidemiologie en de dynamiek zijn fragmentarisch en spaarzaam.

Ze vrezen dat (een deel van de?) koeien na infectie langer dan 4 maanden blijft uitscheiden. In (oude) literatuur zijn spaarzame gegevens beschreven dat een dier tot 2 jaar kan uitscheiden na experimentele infectie.

Als ze melk van individuele dieren onderzoeken, gebruiken ze een mengmonster van 4 kwartieren.

Tot slot:

De deelnemers waren openhartig daar waar het ging om de belangen van de zuivel en ook de diagnostische technieken.

13 B  
beheersing - apparisch  
Bijlage 8  
- steekproef  
- de handen

## Aanbevelingen behorend bij rapportage Q-fever dd mei 2007

Uit de studie die is uitgevoerd naar de bestaande kennis over Q-fever blijkt dat er veel essentiële kennis voor een onderbouwd plan van aanpak op besmette rundveebedrijven mist. In de rapportage wordt aangegeven dat er voor het maken van een protocol voor de aanpak en het monitoren van de ziekte op een besmet bedrijf belangrijke hiaten zitten in

secretit

1. Kennis over de klinische verschijnselen van de ziekte bij runderen.
2. De diagnostische mogelijkheden in verschillende situaties en voor verschillende vraagstellingen.
3. De mate en tijdsperiode van uitscheiding van *C. burnetii* via de verschillende excreta.
4. Verspreiding tussen rundveekoppels, binnen koppels en tussen de verschillende diersoorten (rund, schaap, geit)
5. Effectiviteit (epidemiologisch als economisch) van de bestrijding d.m.v. vaccins, behandelingen met antibiotica en diverse managementmaatregelen

In de vergadering van de Begeleidingscommissie Monitoring Rundvee dd 13-2-'07 heeft de commissie aangegeven dat zij het wenselijk vindt dat veehouders met problemen door Q-fever in staat worden gesteld het probleem effectief aan te kunnen pakken. Gegeven de nu gerapporteerde eerste onderzoeksfase zijn specifiek gericht op deze wens in ieder geval de volgende vragen relevant.

Welke (en hoeveel) klinische problemen zijn er door Q-fever en is het dus relevant dat veehouders en dierenartsen bij bepaalde klinische verschijnselen ook aan Q-fever denken?

Als er, door om het even welke aanleiding, reden is om aan een Q-fever infectie te denken, hoe is de diagnose dan te bevestigen?

Welke risico-factoren zijn van belang om managementmaatregelen op het bedrijf op te richten?

Wat mag worden verwacht van het vaccineren en/of met antibiotica behandelen van dieren?

Bestaan er mogelijkheden voor veehouder en dierenarts om op een besmet bedrijf de effecten van hun inspanningen te volgen?

Deze vraagstellingen zijn uitgewerkt in drie onderzoeksvoorstellen die hierachter zijn toegevoegd. De onderzoeksvoorstellen vullen elkaar onderling aan. Het onderzoek naar klinische verschijnselen kan per direct worden opgestart. Uit kostenoverwegingen is het wenselijk om onderzoek naar diagnostische mogelijkheden en risico-factoren gecombineerd uit te voeren en dit aan te laten sluiten bij de specifieke monitoring die eind 2007 zal plaatsvinden. Voor het onderzoeken van de effecten van behandelen en vaccineren, en de mogelijkheden om dit op een bedrijf in de tijd te kunnen volgen, zijn de resultaten van het laatst genoemde onderzoek nodig; dit kan dan ook pas daarna worden uitgevoerd. De in dit plan genoemde aantallen monsters en testen zijn op dit moment alleen indicatief.

Het is onmogelijk om op basis van de huidige kennis voorstellen te doen voor een totaal plan van aanpak voor besmette bedrijven. De kennishiäten zijn hiervoor te groot. Op basis van de resultaten van de bijgevoegde onderzoeksvoorstellen is het wel goed mogelijk individuele veehouders onderbouwd advies te geven over een zinvolle aanpak op hun bedrijf.

De kosten van de voorstellen bedragen

Relatie vruchtbaarheidsproblemen en Coxiella Burnetii infecties op melkveebedrijven	€ 79.600
Diagnostiek voor het aantonen van Coxiella Burnetii in individuele runderen en op bedrijfsniveau en de risicofactoren voor verspreiding van Q-fever.	€ 206.900
Het effect van vaccinatie en/of antibioticumbehandeling op de uitscheiding van Coxiella Burnetii op met Q Fever besmette melkveebedrijven	€ 325.000 (indicatie)
Totaal (2007 & 2008)	€ 611.500

## Relatie vruchtbaarheidsproblemen en Coxiella Burnetii infecties op melkveebedrijven

### Inleiding

In de literatuur is slechts beperkte informatie beschikbaar over de klinische verschijnselen die bij rundvee te relateren zijn aan een infectie met Coxiella Burnetii (Q-fever). In de beschrijvingen die er zijn wordt abortus in het algemeen als belangrijkste symptoom beschouwd; soms wordt ook het optreden van baarmoederontsteking (metritis) genoemd. Routinematig onderzoek naar Q-fever is daarom in Nederland alleen gericht op het symptoom abortus, namelijk door middel van een specifieke kleuring van de nageboorte (immunohistochemie).

In Nederland zijn nog geen klinische beelden bij rundvee beschreven, waarbij de diagnose Q-fever werd gesteld. Dit in tegenstelling tot de situatie bij kleine herkauwers, waarbij de diagnose Q-fever door GD regelmatig wordt bevestigd op basis van het onderzoek van ingezonden nageboorten van verwerpers. Hierbij moet echter opgemerkt worden dat bij verworpen kalveren slechts in beperkte mate (ongeveer 10%) ook de nageboorte samen met de vrucht wordt ingestuurd naar GD, terwijl het bij onderzoeken van verworpen vruchten bij kleine herkauwers in Nederland juist heel gebruikelijk is om ook de nageboorte mee in te sturen.

Als daarbij wordt overwogen dat een groot percentage van de Nederlandse melkveebedrijven afweerstoffen tegen C. burnetii in de tankmelk heeft en dat bij ongeveer de helft van de verworpen vruchten geen diagnose kan worden gesteld, kan worden geconcludeerd dat het mogelijk is dat verschijnselen van Q-fever in Nederland wel optreden, maar nog niet als zodanig worden onderkend. Om aanpak van een infectie mogelijk te maken is het in eerste instantie nodig deze te kunnen herkennen. Daarom wordt in dit project onderzocht welke rol Q-fever speelt bij abortus en baarmoederontstekingen op Nederlandse melkveebedrijven.

### Doelen onderzoek

- Het 1e doel is om meer inzicht te verkrijgen in de mogelijke rol van Q-fever bij het optreden van abortus en metritis bij runderen (NB: door aansluiting bij een ander proefplan wordt tevens het omgekeerde onderzocht, namelijk welke kliniek te zien is bij testpositieve bedrijven/runderen).
- Het 2<sup>e</sup> doel is het beoordelen met welke test een Q-fever infectie op dier- en bedrijfsniveau, bij bedrijven/runderen met klinische (vruchtbaarheids)klachten het beste aangetoond kan worden.

### Uitvoering onderzoek

Het onderzoek bestaat uit een drietal onderdelen:

1. Het onderzoeken op Q-fever van 100 verworpen vruchten van runderen waarbij ook een nageboorte is ingestuurd. Het onderzoek in de vruchten gebeurt d.m.v. een PCR-methode. Deze wordt in Nederland nog niet toegepast, wel in Frankrijk. De nageboorte wordt onderzocht d.m.v. PCR en immunohistochemie. De laatste methode wordt op dit moment al toegepast bij afwijkende nageboorten. Dit zijn vruchten die door veehouders zelf worden ingestuurd, en waarbij dus geen actieve aansturing plaats vindt. Door middel van publiciteit zal getracht worden om te stimuleren om ook de nageboorte in te sturen bij het inzenden van een verworpen vrucht.
2. Op 10 bedrijven met meer dan 10% acute baarmoederontstekingen (lochiometra) worden vaginaalmonsters verzameld van koeien tijdens de eerste 10 dagen na afkalven. Aan dierenartsen wordt gevraagd om deze bedrijven te melden. De



practici nemen per bedrijf van 5 koeien een vaginaalmonster en deze worden d.m.v. PCR techniek onderzocht. Daarnaast neemt de practicus 2x per bedrijf uit de tank een melkmonster en dit monster wordt onderzocht op afweerstoffen en de kiem (PCR). Het eerste tankmelkmonster neemt de practicus bij het bedrijfsbezoek dat uitgevoerd wordt voor het bemonsteren van het 1e rund, het 2e tankmelkmonster bij het bedrijfsbezoek dat uitgevoerd wordt voor het nemen van het 5e vaginaalmonster. (Er is geen onderzoek voorzien op controle bedrijven zonder baarmoederontstekingen.)

3. Van maximaal 25 bedrijven met een positieve uitslag uit onderdeel 1 of 2 (PCR en/of immunohistochemie) wordt een enquête afgenomen. Deze enquête wordt ook afgenomen bij maximaal 25 controlebedrijven (in onderdeel 1 of 2 PCR en immunohistochemie negatief). Bij deze enquête zal met name gevraagd zal worden naar de volgende gegevens:
  - a. Aantal verwerpers en/of lochiometra.
  - b. Hoe lang bestaan deze klachten?
  - c. Optreden andere klachten bij het rundvee, bijvoorbeeld slechte drachtigheidsresultaten.
  - d. Klinische verschijnselen bij de veehouder/gezin/medewerkers.
  - e. Aanwezigheid andere diersoorten (schaap/geit). Indien deze aanwezig zijn, treden/traden daarbij ook klinische klachten op (met name abortus)?

Tevens wordt informatie benut die hiervoor wordt verkregen uit de enquêtes uit het project *prevalentie en risicofactoren* en het project *effect van vaccinatie en/of antibioticumbehandeling*.

### Resultaten

1. Er is inzicht verkregen in de rol van *C. Burnetii* bij abortus en baarmoederontsteking op Nederlandse melkveebedrijven en andersom in het voorkomen van klinische verschijnselen op testpositieve bedrijven.
2. Indien *C. Burnetii* bij deze problemen een rol blijkt te spelen wordt tevens inzicht verkregen in de mogelijkheden om op probleembedrijven de infectie vast te stellen.

### Kostenindicatie

Kosten	Aantal eenheden	Kosten per eenheid	Totale kosten
<b>Projectmanagement</b>	60 uur	€133	7.980
<b>Uitvoeren onderzoek</b>			
Verworpen vruchten			
PCR vrucht	100	€50	5.000
PCR nageboorte	100	€50	5.000
Immunohistochemie nageboorte	100	€35	3.500
<b>Vaginaalmonsters</b>			
Bedrijfsbezoek practicus	50	€20	1.000
Nemen vaginaalmonster + TMmonster (2x/bedrijf) door practicus	50	€20	1.000
PCR vaginaal monster	50	€50	2.500
PCR en Elisa tankmelkmonster	20	€50 + 17	1.340
<b>Enquête</b>			
Afnemen telefonische enquête student	50	€20	1.000
Communicatie			1.500
<b>Analyse en rapportage</b>	320 uur	€133	42.560
Diverse/onvoorzien			7.220
<b>Totaal</b>			<b>€ 79.600</b>

## Binnenbedrijfsprevalentie en risicofactoren voor verspreiding van Q-fever.

. 2007

### Inleiding

Om veehouders zinvol te kunnen adviseren over de aanpak van een eventuele Coxiella Burnetii infectie op hun bedrijf is meer inzicht nodig in het percentage besmette dieren op bedrijven en de risicofactoren die onder Nederlandse omstandigheden bijdragen aan verspreiding van de infectie binnen en tussen bedrijven. Tenslotte dient er kennis ontwikkeld te worden over de mogelijkheden die een veehouder ten dienste kunnen staan om de voortgang van de bestrijding te kunnen volgen.

Uit de specifieke monitor rond in 2006 bleek dat er op veel bedrijven afweerstoffen tegen Coxiella Burnetii, de veroorzaker van Q-fever, werden gevonden en dat er op deze besmette bedrijven een hoge prevalentie bij de runderen werd aangetroffen. Zo hadden op 35,4% van de onderzochte bedrijven meer dan 30% van de melkgevendende runderen afweerstoffen tegen Q-fever. Het is echter niet bekend in hoeverre de seroprevalentie op een bedrijf een weergave is van een actieve besmetting met Coxiella Burnetii waarbij de kiem een mogelijk risico voor de mens kan zijn. Om dit te onderzoeken wordt er voorgesteld om aanvullend onderzoek te doen bij de specifieke monitor 2007. (In de specifieke monitoring 2007 zullen er van 325 bedrijven tankmelkmonsters met zowel een ELISA (voor afweerstoffen) als een RT (real time)-PCR-test (voor het aantonen van de kiem) worden getest. Daarmee wordt inzicht verkregen in zowel de mate waarin afweerstoffen in de tankmelk voorkomen als in het voorkomen van de kiem in tankmelk. Tevens kan inzicht worden verkregen over de relatie tussen beide.)

Ook veehouders die een C. Burnetii infectie op hun bedrijf willen uitsluiten zouden in de toekomst gebruik kunnen maken van de (real time)-PCR-test. Voor hen zou het wenselijk zijn om gebruik te kunnen maken van de reguliere melkmonsterstroom van het melkcontrolestation (MCS). De mogelijkheid bestaat dan echter dat er, bij het verwerken van de melkmonsters op het MCS, kruiscontaminatie van Coxiella Burnetii tussen melkmonsters wordt veroorzaakt. Voor de meeste tankmelktesten (ELISA's) is dit geen probleem, maar met een gevoelige test als een RT-PCR-test kan dit aanleiding geven tot foutpositieve resultaten. Daarnaast is het de vraag of het monster uit de reguliere stroom voldoende melk bevat om de RT-PCR uit te voeren. Om dit te ondervangen worden zowel tankmelkmonsters getest die rechtstreeks van het bedrijf naar GD worden getransporteerd, als tankmelkmonsters uit de reguliere stroom van het MCS.

Daarnaast zal onderzocht worden hoe de uitslag van een RT-PCR-test op tankmelk gerelateerd is aan de prevalentie van besmette en uitscheidende dieren op het bedrijf. (bij welke percentage besmette dieren scoort de PCR test positief en is het semi-kwantitatieve resultaat van de RT-PCR-test op tankmelk gerelateerd aan het percentage besmette dieren op het bedrijf). Om in de prevalentiemeting ook de niet-melkgevendende dieren mee te nemen en jongvee, zal van die dieren een mestmonster genomen worden om de uitscheiding te meten. Mocht blijken dat een relatie te leggen is tussen RT-PCR uitslag en aantal besmette dieren, dan kan dat gegeven gebruikt worden voor het volgen van de voortgang van de bestrijding op het bedrijf. Het effect van genomen maatregelen kan dan afgemeten worden aan de afname van de kwantitatieve RT-PCR-testuitslag als maat voor afname van het aantal besmette runderen.

Door op de onderzochte bedrijven tevens de risicofactoren voor de spreiding van Q-fever te inventariseren wordt de benodigde kennis verkregen voor het adviseren van veehouders over de meest zinvolle managementmaatregelen die zij kunnen nemen om de ziekte op het bedrijf te bestrijden en buiten de deur te houden. Daarbij kan gedacht worden aan het effect van de aanwezigheid van kleine herkauwers op het bedrijf,

hygiënemaatregelen rond afkalven, aanvoer van vee, etc. Tot nu toe is er in Nederland nog geen dergelijk onderzoek uitgevoerd.

### **Doel van het onderzoek**

Het doel van het onderzoeksvoorstel is dan ook driedelig, namelijk:

1. Bepalen welke logistiek van monsterverzameling het meest geschikt is voor het testen van tankmelkmonsters in een RT-PCR-test op Q-fever. Zijn monsters uit de reguliere monsterstroom van het Melkcontrole station (MCS) het meest geschikt of dienen de monsters direct op het bedrijf te worden genomen?
2. Bepalen of de kwantitatieve uitslag van een RT-PCR-test in tankmelk gerelateerd is aan de besmettingsgraad op een bedrijf. In dat verband zal ook gekeken worden naar hoe dat zich verhoudt tot de serologische resultaten uit de ELISA op zowel koe- als tankmelkniveau en de individuele RT-PCR-resultaten. Bepalen wat de meest geschikte diagnostische methode is om een dier- en bedrijfsstatus te bepalen.
3. Inzicht krijgen in de mogelijke risicofactoren voor de verspreiding van Q-fever tussen en binnen bedrijven waarmee informatie wordt verkregen voor mogelijke interventie maatregelen die veehouders kunnen treffen.

### **Uitvoering onderzoek**

#### *Doel 1: Logistiek monsterverzameling*

De tankmelkmonsters van de te onderzoeken bedrijven worden in duplo genomen tijdens de melkcontrole. Eén monster gaat via het MCS naar GD en één monster wordt direct ingezonden naar GD (deze laatste maakt reeds onderdeel uit van de specifieke monitoring). De overeenkomst tussen de parallel genomen monsters zal worden getoetst, o.a. door de kappa-waarde (een maat voor de overeenkomst) voor de twee methoden te bepalen.

#### *Doel 2 en 3: Verband tussen besmettingsgraad van een bedrijf en het semi-kwantitatieve resultaat van een RT-PCR-test op tankmelk en daaraan gerelateerde risicofactoren.*

Op 100 bedrijven worden 50 individuele runderen van verschillende leeftijden bemonsterd, van elke leeftijdscategorie wordt er een representatief aantal runderen geselecteerd.<sup>1</sup> Van melkgevende runderen wordt een bloed- en melkmonster genomen en van de niet-melkgevende runderen een bloed- en mestmonster. De bloedmonsters worden met de ELISA getest en de melk- en mestmonsters met de RT-PCR-test. Daarmee kan een indruk worden verkregen over de mate waarin de kiem zich over het bedrijf heeft verspreid. Op deze bedrijven wordt tevens een enquête afgenomen om mogelijke risicofactoren voor de verspreiding van de kiem te achterhalen. De enquête zal betrekking hebben op het bedrijfsmanagement dat mogelijk een rol speelt bij insleep of verspreiding van Q-fever zoals aankoop van vee, de aanwezigheid van kleine herkauwers en de hygiëne rond afkalven. Ook zal er gevraagd worden naar klinische verschijnselen en mogelijke schade door Q-fever. Op de 225 bedrijven waar geen individuele monsters worden genomen wordt een verkorte enquête afgenomen die alleen gericht is op mogelijke factoren voor insleep van Q-fever.

---

<sup>1</sup> Met 50 dieren wordt een goede indruk verkregen van de aanwezigheid van de kiem op een bedrijf, en kan wanneer de kiem niet wordt aangetroffen in de onderzochte runderen met 95% betrouwbaarheid worden gesteld dat gemiddeld minder dan 5% van de runderen de kiem uitscheidt. Volledige zekerheid over de afwezigheid van de kiem wordt verkregen als alle runderen worden onderzocht wat gemiddeld 150 runderen per bedrijf betreft. De keuze wordt bepaald door het belang van het aantonen van de volledige afwezigheid van de kiem. Als de commissie voor deze laatste optie kiest zal de begroting naar rato van het aantal testen worden aangepast.

## Resultaten

1. Er is bepaald welke logistiek van monsterverzameling het meest geschikt is voor het testen van melkmonsters voor Q-fever met een RT-PCR-test.
2. We weten of het mogelijk is om met een RT-PCR-test op tankmelk een uitspraak te doen over de besmettingsgraad van de kiem op het bedrijf.
3. Er is inzicht verkregen in de associaties tussen de mate van vóórkomen van de kiem bij runderen op bedrijven, de seroprevalentie binnen een bedrijf en het resultaat van een RT-PCR-test en een ELISA op tankmelk.
4. Door de mix van testen (ELISA en PCR), materiaal (bloed, individueel melk, mest, en tankmelk) kan een optimale diagnostiek worden ontwikkeld voor Q-fever.
5. Inzicht in de factoren die een rol spelen bij de verspreiding van Q-fever tussen en binnen bedrijven. Dit is in eerste instantie van belang bij de advisering van veehouders over managementmaatregelen, maar kan ook mogelijk bruikbare informatie opleveren voor het opzetten van eventuele interventieprogramma's.

## Kostenindicatie

Kosten	Aantal eenheden	Kosten per eenheid	Totale kosten
<b>Projectmanagement</b>	80 uur	€ 133/uur	10.640
<b>Uitvoeren onderzoek</b>			
Afnemen (telefonische) enquêtes op 325 bedrijven en het nemen van individuele melk- en mestmonsters op 100 bedrijven door studenten	1 uur/enquête op 325 bedrijven = 325 uur 4 uur* 100 bedrijfsbezoeken = 400 uur	€ 20/uur	14.500
Bedrijfsbezoeken voor 50 individuele bloedmonsters/bedrijf op 100 bedrijven door eigen praktici	Visite 100 bezoeken Kosten monsternamen 5.000 monsters	€20 €10	2.000 50.000
Kilometervergoeding	150 km/bedrijf naar 100 bedrijven = 15.000km	€0.41	6.150
Vergoeding voor deelname voor de veehouder	€100 voor 100 bedrijven	€100/bedrijf	10.000
Werven veehouders	Mailing/bellen		1.500
Kosten aan MCS			1.000
<b>Diagnostiek</b>			
Q-fever PCR op 325 TM-monsters	325	€50	16.250
Q-fever PCR op indiv. melk/mestmonsters	50 monsters/bedrijf op 100 bedrijven = 500 monsters	€50	25.000
Q-fever ELISA op ind. bloedmonsters	50 monsters/bedrijf op 100 bedrijven = 500 monsters	€17	8.500
<b>Analyse en rapportage</b>	320 uur	€ 133/uur	42.560
Diverse/onvoorzien			18.800
<b>Totaal</b>			<b>€ 206.900</b>

# Het effect van vaccinatie en/of antibioticumbehandeling op de uitscheiding van *Coxiella burnetii* op met Q-fever besmette melkveebedrijven

, mei 2007

## Inleiding

Door de Begeleidingscommissie Monitoring Rundvee is aangegeven dat zij het wenselijk vindt dat veehouders die op hun bedrijf worden geconfronteerd met een Q-fever infectie de mogelijkheid hebben deze infectie effectief te bestrijden. Uit literatuuronderzoek en een verkenning in de landen om ons heen blijkt echter dat zowel vaccineren als behandelen met antibiotica hiervoor weliswaar als mogelijkheid worden aangegeven, maar dat essentiële kennis mist over de effecten die mogen worden verwacht. Er zijn drie opties om dieren te behandelen en daarmee de infectie aan te pakken, namelijk behandelingen met een antibioticum, vaccinatie en een combinatie van vaccinatie en antibioticumbehandelingen. (Een alternatief dat in het buitenland wel genoemd wordt, is het opruimen van uitscheiders Dit wordt in dit onderzoek niet meegenomen). Om te bepalen hoe effectief deze behandelingen zijn, kan worden gekeken naar de mate van reductie van uitscheiding van de kiem door geïnfekteerde dieren en de mate van het voorkomen (preventie) van infectie van nog niet geïnfekteerde dieren.

### *Vaccinatie*

Er zijn 2 typen vaccins, namelijk vaccins die gebaseerd zijn op Fase 1 en Fase 2 van de bacterie. Bij geiten zijn beide typen vaccins uitgetest en daarbij bleek een Fase 1 vaccin effectiever te zijn dan een Fase 2 vaccin. Het Fase 1 vaccin verminderde bij geiten het aantal abortusgevallen en de excretie van de kiem in de melk aanzienlijk. Bij met Fase 2 gevaccineerde geiten was dit niet het geval. Het is te verwachten dat Fase 1 vaccins bij runderen effectiever zijn dan Fase 2 vaccins. In Nederland zijn er geen geregistreerde Q-fever vaccins beschikbaar. In Frankrijk wordt een Fase 1 vaccin in het kader van onderzoek toegepast. Dit is geen marker vaccin.

### *Antibioticumbehandeling*

In vitro is *Coxiella burnetii* gevoelig voor meerdere antibiotica. Van de beschikbare antibiotica, wordt het injecteren van langwerkende oxytetracyclines tijdens de droogstand in Frankrijk als beste aanpak beschouwd. Echter, informatie over het effect van deze behandeling op het reduceren van de uitscheiding van de kiem is nog zeer summier. De behandeling wordt 2x toegepast met een interval van 2 weken.

## Doel van het onderzoek

In dit onderzoek worden 3 typen behandelingen toegepast, namelijk vaccinatie met een Fase 1 vaccin, een tweemaalige behandeling met een antibioticum en een combinatie van vaccinatie en antibioticumbehandelingen.

Het doel van het onderzoek is om de effectiviteit van de 3 verschillende (combinaties van) behandelingen te bepalen. Dit wordt gedaan door de resultaten van deze behandelingen te vergelijken met niet behandelde runderen binnen hetzelfde bedrijf en met een groep bedrijven, die als geheel niet worden behandeld. Op dierniveau worden hiertoe de volgende effecten van de behandelingen gemeten:

- de mate van reductie van uitscheiding van kiemen in vaginale uitvloeiing en melk in initieel PCR positieve dieren.
- de mate van reductie van nieuwe infecties in initieel PCR negatieve dieren.

Daarnaast wordt op bedrijfsniveau gevolgd welk effect deze partiële bedrijfsbehandelingen hebben op afweerstoffen en uitscheiding van de kiem in de tankmelk.

## Uitvoering onderzoek

In totaal zullen 16 bedrijven met een gemiddelde bedrijfsgrootte van ongeveer 65 melkkoeien deelnemen aan het onderzoek. Het aantal melkkoeien hangt mede af van de medewerking van de benaderde bedrijven. Op bedrijfs- c.q. tankmelkniveau kan dan een effectiviteit van > 75% worden aangetoond, dus tenminste 3 van de 4 behandelde bedrijven moeten PCR negatief in tankmelk worden en niet één van de onbehandelde controle bedrijven. Geselecteerd worden bedrijven met een positieve PCR van de tankmelk (bij voorkeur bedrijven met een sterk positief PCR uitslag). Dit kunnen bedrijven zijn die positief zijn bevonden bij de periodieke monitoring en/of bedrijven die positief zijn bevonden in een van de andere Q-fever onderzoeken. Bij de start van het onderzoek worden van alle 16 bedrijven door een GD buitendienstmedewerker melkmonsters van individuele, melkgevende koeien genomen. Het is niet mogelijk om hiervoor individuele melkmonsters afkomstig van het melkcontrolestation te gebruiken, omdat hierbij niet de garantie kan worden verkregen dat bij het nemen van de monsters op het bedrijf en/of de bewerking bij het melkcontrolestation, kruiscontaminatie helemaal wordt voorkomen. Zelfs hele lichte kruiscontaminatie kan de (zeer gevoelige) PCR beïnvloeden. Deze melkmonsters van de runderen worden vervolgens individueel onderzocht m.b.v. PCR. Van de tank wordt tijdens het bedrijfsbezoek ook een monster genomen voor onderzoek op de kiem (d.m.v. PCR en onderzoek op afweerstoffen). Ook worden een aantal vragen over de bedrijfsvoering gesteld (korte enquête). Op basis van de resultaten van het aantal positieve dieren bij het individuele melkonderzoek, worden de bedrijven onderverdeeld in 4 groepen:

#### Groep 1 (vaccingroep).

De helft van de PCR-positieve runderen en de helft van de PCR-negatieve runderen worden door de practicus gevaccineerd volgens het schema van de vaccinfabrikant en de andere dieren worden niet gevaccineerd (controledieren). Vervolgens worden van alle melkgevende runderen eenmaal per 2 maanden individuele melkmonsters genomen door een GD buitendienstmedewerker en onderzocht d.m.v. een PCR. Bij dit bedrijfsbezoek wordt van de tank een monster genomen voor onderzoek op afweerstoffen en de kiem. Van 1 van de 4 bedrijven worden daarnaast 1x per 2 weken door de practicus vaginaalmonsters genomen van koeien die in de daaraan voorafgaande 14 dagen hebben gekalfd. Deze monsters worden onderzocht d.m.v. een PCR. Vanaf het moment van vaccinatie duurt het onderzoek op alle bedrijven in totaal 6 maanden, waarbij dus na de vaccinatie 3x van de melkgevende koeien melkmonsters worden verzameld.

#### Groep 2 (antibioticumgroep).

Eenmaal per 2 maanden worden van de koeien, die 1-3 maanden daarna droog worden gezet, individuele melkmonsters genomen door een GD buitendienstmedewerker. Deze bemonstering wordt in totaal 3x uitgevoerd. De helft van de PCR-positieve runderen en de helft van de PCR-negatieve runderen worden tijdens de droogstand 2x door de veehouder behandeld met een langwerkend oxytetracycline. Na afkalven worden van de behandelde en niet-behandelde koeien (met een vergelijkbaar lactatiestadium) in totaal 3x individuele melkmonsters genomen voor PCR onderzoek. Daarnaast wordt tegelijkertijd van de tank een monster genomen voor onderzoek op afweerstoffen en de kiem. Van 1 van de 4 bedrijven worden 1x per 2 weken door de practicus vaginaalmonsters genomen van de behandelde en niet-behandelde koeien, die in de daaraan voorafgaande 14 dagen hebben gekalfd. Deze monsters worden onderzocht d.m.v. een PCR.

#### Groep 3 (vaccin/antibioticumgroep).

De helft van de PCR-positieve runderen en de helft van de PCR-negatieve runderen worden door de practicus gevaccineerd volgens het schema van de vaccinfabrikant en

de andere dieren worden niet gevaccineerd. De gevaccineerde runderen worden tijdens de droogstand 2x door de veehouder behandeld met een langwerkend oxytetracycline. De niet-gevaccineerde dieren worden niet behandeld met een antibioticum. Na afkalven worden van de behandelde en niet-behandelde koeien (met een vergelijkbaar lactatiestadium) in totaal 3x individuele melkmonsters genomen voor PCR onderzoek. Daarnaast wordt tegelijkertijd van de tank een monster genomen voor onderzoek op afweerstoffen en de kiem. Van 1 van de 4 bedrijven worden daarnaast 1x per 2 weken door de practicus vaginaalmonsters genomen van behandelde en niet-behandelde koeien, die in de daaraan voorafgaande 14 dagen hebben gekalfd. Deze monsters worden onderzocht d.m.v. PCR.

#### Groep 4 (controlegroep).

Eenmaal per 2 maanden worden van alle melkgevende runderen individuele melkmonsters genomen door een GD buitendienstmedewerker en onderzocht d.m.v. een PCR. Deze monsters worden in totaal 3x genomen. Daarnaast wordt tegelijkertijd van de tank een monster genomen voor onderzoek op afweerstoffen en de kiem. Van 1 van de 4 bedrijven worden daarnaast 1x per 2 weken door de practicus vaginaalmonsters genomen van koeien die in de daaraan voorafgaande 14 dagen hebben gekalfd (gedurende ½ jaar). Deze monsters worden onderzocht d.m.v. PCR.

#### **Resultaten**

1. Er is bekend welk effect mag worden verwacht van de behandelingsstrategieën op uitscheiding van de kiem in melk en vaginaalvocht.
2. Er is bekend welk van de drie onderzochte behandelingsstrategieën het meeste perspectief biedt voor de aanpak van een besmet bedrijf.

#### **Kostenindicatie**

Het aantal te onderzoeken dieren per categorie is afhankelijk van de binnenbedrijfsprevalentie, die moet blijken uit het onderzoek *prevalentie en risico-factoren*. Daaruit volgt ook of er nog toegevoegde waarde te verwachten is van het aanvullend volgen van afweerstoffen-titers om nieuwe infecties te detecteren (nu niet beschreven). De genoemde aantallen zijn daarom indicatief (gebaseerd op een binnenbedrijfsprevalentie van plm. 40% op besmette bedrijven), evenals onderstaande kostenindicatie.

Kosten	Aantal eenheden	Totale kosten
<b>Project management</b>	plm. 80 uur	12.000
Uitvoeren onderzoek	plm. 200 uur	25.000
Bedrijfsbezoeken buitendienst incl. monsternamen en enquete		37.000
Bedrijfsbezoeken practici incl. monsternemen en enten		16.000
Div. labonderzoek		150.000
Kosten aan veehouders incl. antibioticum		6.000
<b>Analyse en rapportage</b>	plm. 200 uur	25.000
Onvoorzien	plm. 20%	54.000
<b>Totaal</b>		<b>€ 325.000</b>