

Seroepidemiología de la infección por *Coxiella burnetii* en donantes de sangre en Albacete

Joaquín Bartolomé^a, Eva Riquelme^a, Noelia Hernández-Pérez^a, Santiago García-Ruiz^b, Ramón Luján^b, Santiago Lorente^a, Ricardo Medrano-Callejas^c y María Dolores Crespo^a

^aLaboratorio de Microbiología. ^bCentro de Transfusiones de Albacete. Complejo Hospitalario Universitario de Albacete. ^cDepartamento de Metodología. Universidad Nacional de Educación a Distancia (Centro Asociado). Albacete. España.

INTRODUCCIÓN. Los objetivos de este estudio fueron determinar la prevalencia de anticuerpos frente a *Coxiella burnetii* en donantes de sangre y estudiar las características epidemiológicas de la infección por *C. burnetii* en Albacete.

MÉTODOS. Se tomaron 863 muestras de suero de donantes de sangre con edades entre 18 y 65 años. Las muestras se estratificaron por edad, sexo y residencia (rural o urbana). Se determinaron los títulos de IgG e IgM frente al antígeno de fase II de *C. burnetii* mediante inmunofluorescencia indirecta.

RESULTADOS. La prevalencia de IgG anti-fase II fue del 23,1% y 3 donantes (0,3%) tenían títulos positivos de IgM. Los varones fueron más frecuentemente seropositivos que las mujeres (29% frente a 18%; *odds ratio* [OR]: 1,85; intervalo de confianza del 95% [IC 95%]: 1,34-2,56), y esta diferencia no estaba relacionada con una exposición ocupacional diferencial a animales. Tener una mascota no tuvo efecto sobre la seroprevalencia. Por el contrario, las ocupaciones que implican contacto con ungulados domésticos se asociaron con una seroprevalencia incrementada (OR: 2,39; IC 95%: 1,04-5,48). Sin embargo, el 90% de los donantes seropositivos no tenían contacto con animales de granja.

CONCLUSIÓN. Nuestros resultados muestran que la infección por *C. burnetii* es altamente endémica en Albacete y que la mayoría de las infecciones no están ligadas a una exposición ocupacional específica. La alta prevalencia de anticuerpos frente a *C. burnetii* en donantes de sangre indica la conveniencia de realizar estudios para determinar el riesgo de fiebre Q transmitida por transfusión en áreas endémicas.

Palabras clave: *Coxiella burnetii*. Fiebre Q. Donantes de sangre. Estudios seroepidemiológicos.

Seroepidemiology of *Coxiella burnetii* infection among blood donors in Albacete

INTRODUCTION. The objectives of this study were to determine the prevalence of antibodies to *Coxiella burnetii* among blood donors and to examine the epidemiological characteristics of *C. burnetii* infection in Albacete, Spain.

METHODS. A total of 863 serum samples were collected from blood donors aged 18-65 years. Donor samples were stratified by age, sex, and residence (rural or urban). IgG and IgM titers to the *C. burnetii* phase II antigen were determined by an indirect immunofluorescence assay.

RESULTS. The prevalence of anti-phase II IgG was 23.1%, and three (0.3%) donors had positive IgM titers. Men were more frequently seropositive than women (29% vs. 18%; OR: 1.85; 95% CI: 1.34-2.56), and this difference was not related to differential occupational exposure to animals. Pet ownership had no impact on seroprevalence. In contrast, occupations involving contact with domestic ungulates were associated with a higher seroprevalence (OR: 2.39; 95% CI: 1.04-5.48). Nevertheless, 90% of seropositive donors reported no contact with farm animals.

CONCLUSION. Our results show that *C. burnetii* infection is highly endemic in Albacete and that most infections are not linked to specific occupational exposure in this area. The high prevalence of antibodies to *C. burnetii* among blood donors indicates the advisability of studies to determine the risk of transfusion-transmitted Q fever in endemic areas.

Key words: *Coxiella burnetii*. Q fever. Blood donors. Seroepidemiologic studies.

Introducción

La fiebre Q es una zoonosis de distribución mundial causada por *Coxiella burnetii*, una bacteria intracelular estricta con un gran número de especies animales hospedadoras¹. La infección primaria es asintomática en el 50-60% de los casos. Cuando hay síntomas la enfermedad aguda suele ser autolimitada y se presenta, en la mayoría de los casos, en forma de hepatitis, neumonía o síndrome febril¹.

Se considera que las ovejas, las cabras y las vacas son el principal reservorio y fuente de infección para los huma-

Correspondencia: Dr. J. Bartolomé.
Laboratorio de Microbiología.
Hospital General Universitario de Albacete.
Hermanos Falcó, 37. 02006 Albacete. España.
Correo electrónico: jbartolome@sescam.jccm.es

Manuscrito recibido el 1-6-2006; aceptado el 18-12-2006.

nos. Sin embargo, todos los vertebrados y muchos invertebrados pueden ser infectados por *C. burnetii*¹. Tanto el papel que desempeña una especie animal en la transmisión de la fiebre Q como la epidemiología de la infección humana varían de unas zonas a otras¹⁻³.

La principal vía de adquisición de la infección es la inhalación de partículas contaminadas procedentes de animales infectados, que excretan la bacteria en la orina, la leche, las heces o con los productos del parto¹. Otras vías de adquisición, como la ingestión o la transmisión persona-persona, son menos frecuentes¹. Se ha descrito la transmisión de la fiebre Q mediante transfusión sanguínea⁴, y las normativas europeas y española exigen que se excluya temporalmente de la donación de sangre a las personas que manifiesten haber padecido fiebre Q^{5,6}. Sin embargo, no hay información sobre el riesgo de transmisión de *C. burnetii* mediante transfusión sanguínea en áreas endémicas.

La fiebre Q es endémica en muchas zonas de España y los estudios de seroprevalencia revelan que el grado de endemidad puede variar de unas áreas a otras⁷⁻¹⁵. No se ha hecho hasta la fecha ningún estudio seroepidemiológico en Albacete ni en Castilla-La Mancha.

La provincia de Albacete tiene una extensión superficial de 14.926 km², de los que el 75% se encuentran entre los 600 y 1.000 m de altitud. El 51% de la superficie geográfica total está dedicada a tierras de cultivo (41% de secano y 10% de regadío), el 20% es terreno forestal y el 13% son prados y pastizales. Durante el período 1971/2000 la temperatura media anual fue de 13,6 °C y la precipitación media anual de 367 mm¹⁶.

Los objetivos de este trabajo fueron: a) determinar la seroprevalencia de la fiebre Q en una muestra de donantes de sangre y b) describir las características epidemiológicas de la infección humana por *C. burnetii* en la provincia de Albacete.

Métodos

El cálculo del tamaño de muestra se basó en una seroprevalencia esperada del 5%, ya que éste fue el valor encontrado en un estudio anterior realizado en el sur de España¹⁴. Se calculó el tamaño de muestra necesario para detectar una diferencia en seroprevalencia entre 2 grupos de igual tamaño usando los siguientes parámetros: a) seroprevalencia en el grupo 1 = 2,5%, seroprevalencia en el grupo 2 = 7,5%; b) valor alfa = 0,05, y c) potencia = 90%. El número total de sujetos a incluir en el estudio se fijó en 900. Los sujetos se seleccionaron entre enero de 2004 y enero de 2005, con estratificación por sexo, edad y área de residencia (rural o urbana). Se propuso participar en el estudio a todos los donantes que acudían a los puntos de extracción del banco de sangre hasta completar los grupos de sexo, edad y área de residencia. Se entregó a todos los donantes seleccionados un cuestionario en el que se les pidió que indicaran su sexo, edad y localidad de residencia. Así mismo se les pidió que indicaran si tenían contacto habitual con animales, el tipo de animal con el que tenían contacto y el ámbito en el que se producía el contacto (en la casa, en el trabajo o en otros ámbitos). Los donantes que residían en localidades con más de 10.000 habitantes se consideraron urbanos y aquellos que residían en localidades con menos de 10.000 habitantes se consideraron rurales. Se excluyó a los donantes cuyo suero estaba hemolizado o lipémico y finalmente se incluyó en el estudio a un total de 863 sujetos (tabla 1). Ninguno de ellos había sufrido un síndrome febril en las 2 semanas previas ni había sido diagnosticado anteriormente de fiebre Q.

Todos los donantes fueron informados de los objetivos y la metodología básica del proyecto y dieron por escrito su consentimiento para

participar en el estudio. El proyecto fue revisado y aprobado por el Comité de Ética del Complejo Hospitalario Universitario de Albacete.

Se determinó el título de IgG frente a antígeno de fase II de *C. burnetii* mediante inmunofluorescencia indirecta (*C. burnetii*-Spot IF; BioMérieux, Marcy l'Etoile, France), partiendo de una dilución 1/80. Se consideraron positivos para IgG los sueros con un título superior a 80. Los sueros con un título de 80 se probaron a la misma dilución con un segundo método de IFI (Q fever IFA IgG; Focus Technologies, Cypress, EE.UU.) y aquellos que resultaron positivos en la segunda IFI se consideraron positivos con un título de 80. Los sueros con un título inferior a 80 y los que resultaron negativos con la IFI de Focus se consideraron negativos. Los sueros positivos para IgG anti-*C. burnetii* se probaron para IgM frente al mismo antígeno (*C. burnetii*-Spot IF; BioMérieux, Marcy l'Etoile, France) a la dilución 1/80, después de realizar la absorción con anti-IgG (RF Absorbent; BioMérieux, Marcy l'Etoile, France). Se consideraron positivos para IgM los sueros con un título igual o superior a 80.

Se usó la prueba de chi cuadrado (χ^2) para comparar las seroprevalencias entre grupos. Se calculó también la *odds ratio* (OR), con su intervalo de confianza del 95% (IC 95%), con y sin estratificar por las variables principales: sexo, origen rural o urbano y edad mayor o menor de 40 años. Cuando la OR ajustada y la bruta diferían en al menos un 10%, la comparación se realizó tras estratificar por la variable confusora mediante el procedimiento de Mantel-Haenszel. Los análisis estadísticos se realizaron con el programa EpiInfo 2000.

Resultados

Un total de 199 donantes (23,1%) fueron positivos para IgG anti-*C. burnetii*, y tres (0,3%) fueron también positivos para IgM. En los sujetos positivos para IgG y negativos para IgM, la media geométrica de los títulos de IgG anti-*C. burnetii* fue 164. Un total de 63 donantes (7,3%) tenían títulos de IgG mayores o iguales a 320, pero sólo tres del total de donantes presentaban además IgM y tenían por tanto un perfil serológico sugestivo de infección reciente.

La seroprevalencia fue mayor en varones que en mujeres (tabla 2). Un total de 23 varones y 4 mujeres trabajaban en contacto con animales. Entre los donantes que no tenían contacto con animales en el trabajo la seroprevalencia fue de 27,4% en varones y de 17,6% en mujeres (OR = 1,76; IC 95%: 1,27-2,45; p = 0,0007).

Encontramos algún indicio de que la seroprevalencia podía diferir entre grupos de edad (χ^2 = 15,7; p = 0,047). El porcentaje de seropositivos varió entre el 13% en el grupo

TABLA 1. Distribución de los donantes por sexo, edad y residencia (urbana o rural)

Edad (años)	Urbano		Rural		Total
	Mujeres	Varones	Mujeres	Varones	
18-24	25	27	25	25	102
25-29	25	24	25	22	96
30-34	26	23	24	24	97
35-39	24	24	26	24	98
40-44	25	24	23	28	100
45-49	23	25	23	22	93
50-54	25	23	23	22	93
55-59	24	22	24	21	91
60-65	24	25	21	23	93
Total	221	217	214	211	863

TABLA 2. Prevalencia de IgG anti-*Coxiella burnetii* en función de las variables estudiadas

	N.º pos/total (%)	OR (IC 95%)	p
Sexo			
Mujer	77/435 (18)		
Varón	122/428 (29)	1,85 (1,34-2,56)	0,00017
Edad (años)			
40-65	96/470 (20)		
18-39	103/393 (26)	1,38 (1,01-1,90)	0,045
Residencia:			
Rural	109/425 (26)		
Urbana	90/438 (21)	0,75 (0,55-1,03)	0,075
Contacto con animales en casa o patio			
Perro	53/231 (23)	0,99 (0,69-1,42)	0,96
Gato	19/87 (22)	0,93 (0,54-1,58)	0,77
Ave de jaula	22/116 (19)	0,75 (0,46-1,24)	0,26
Hámster	3/15 (20)	NC	NC
Tortuga	2/12 (17)	NC	NC
Gallina	17/58 (29)	1,29 (0,71-2,34)*	0,41*
Conejo	7/23 (30)	1,33 (0,54-3,30)*	0,54*
Contacto ocupacional con ungulados domésticos**	11/24 (46)	2,39 (1,04-5,48)***	0,035***
Cazadores	2/16 (13)	NC	NC

*Tras estratificar por residencia rural o urbana.

**Carniceros, 6; ganaderos, 5; agricultores, 2; pastores, 2; trabajadores de matadero, 2; trabajadores de industria cárnica, 2; inspector de corrales, 1; no especificado, 4.

***Tras estratificar por sexo.

OR: odds ratio; IC 95%: intervalo de confianza del 95%; NC: no calculado.

de 50-54 años de edad y el 29% en el grupo de 18-24 años, pero no mostró una tendencia lineal a aumentar o disminuir con la edad (χ^2 para tendencia lineal = 2,09; $p = 0,148$). Los donantes menores de 40 años tendieron a ser más frecuentemente seropositivos que los mayores de esa edad (tabla 2). Esta diferencia fue más marcada en mujeres (22,5% de seropositivos en mujeres de 18-39 años frente a 13,6% en mujeres de 40-65 años; OR = 1,84; IC 95%: 1,12-3,04; $p = 0,016$) que en varones (30,1% en varones de 18-39 años frente a 27,2% en varones de 40-65 años; OR = 1,15; IC 95%: 0,55-1,03; $p = 0,075$).

La prevalencia de IgG anti-*C. burnetii* fue ligeramente menor en donantes de procedencia urbana que en los de procedencia rural, pero la diferencia no fue significativa al nivel de confianza del 95% (tabla 2). La seroprevalencia en donantes rurales según la comarca de residencia fue como sigue: 9% (3/34) en Almansa, 33% (21/64) en el Centro, 27% (12/44) en Hellín, 20% (15/75) en La Mancha, 27% (27/99) en la Manchuela, 29% (14/48) en la sierra de Alcaraz y 28% (17/61) en la sierra de Segura. La variación en el porcentaje de seropositividad entre comarcas no fue significativa ($\chi^2 = 8,7$; $p = 0,19$).

Un total de 393 donantes (45,5%) negaron tener contacto con animales. La seroprevalencia en estos donantes fue de 22,6%.

Tenían un animal en casa o en el patio 393 donantes (45,5%). La seroprevalencia no difirió entre donantes con o sin animales en casa o en el patio ($p = 0,56$). Tener un perro, un gato o un pájaro en casa no se asoció a una seroprevalencia incrementada (tabla 2).

Tenían contacto con animales en el trabajo 27 donantes (3,1%) y 24 de ellos tenían contacto con ungulados domésticos. Se encontró una asociación entre el contacto profesional con ungulados domésticos y una seroprevalencia incrementada (tabla 2). Por otro lado, 180 (90%) de los 199 donantes seropositivos no tenían contacto con ungulados domésticos.

Un análisis multivariante mostró, igual que el análisis estratificado, que las variables asociadas, al nivel de confianza del 95%, con la infección pasada por *C. burnetii* fueron el sexo, la edad y el contacto profesional con ungulados domésticos, con resultados equivalentes a los del análisis estratificado (no se muestran los resultados del análisis multivariante).

Discusión

Hemos detectado marcadores de infección pasada por *C. burnetii* en el 23% de los donantes estudiados. Este hallazgo indica que la infección por *C. burnetii* es altamente endémica en la provincia de Albacete.

La distribución por edad, sexo y residencia rural o urbana de los sujetos de este estudio no es la misma que la de la población general. Por ello no se puede asumir que el valor concreto de seroprevalencia que encontramos en la muestra de donantes estudiados se corresponda con el de la población general. No obstante, el análisis de las relaciones entre la seroprevalencia y las variables estudiadas en este trabajo ofrece información sobre la epidemiología de la infección por *C. burnetii* en nuestra área.

En nuestro estudio la seroprevalencia no mostró una tendencia a aumentar con la edad y la frecuencia de anticuerpos fue alta en el grupo de edad de 18-24 años. La seroprevalencia en los donantes más jóvenes tiene especial interés porque refleja la circulación de *C. burnetii* en años más recientes. En Albacete la seroprevalencia en el grupo de 18-24 años fue similar a la descrita en grupos de edad equivalentes en zonas consideradas hiperendémicas, como Cantabria¹³ o el País Vasco¹⁰.

La seroprevalencia fue mayor en varones que en mujeres. En algunos estudios se describen hallazgos similares^{10,12,13,15,17}, mientras que otros no encuentran diferencias de prevalencia entre sexos^{18,19} o incluso hallan una

mayor seroprevalencia en mujeres²⁰. Algunos autores han sugerido que una mayor seropositividad en varones podría deberse a una más frecuente exposición profesional^{13,15,17}. En nuestro trabajo la diferencia de seroprevalencia entre sexos no fue debida a una mayor exposición ocupacional de los varones. Además, nuestros resultados sugieren que la exposición a *C. burnetii* puede ser dependiente de la edad en mujeres, siendo mayor en mujeres menores de 40 años que en mayores de esa edad. Desconocemos la causa de estas diferencias en seroprevalencia según el sexo y la edad, pero se debe buscar una explicación distinta de la exposición laboral diferencial a animales.

Nuestro estudio aporta indicios de que las profesiones que implican contacto con ungulados domésticos se asocian a una mayor seroprevalencia. Esto sugiere que los ungulados domésticos pueden ser un reservorio para *C. burnetii* en nuestra área. Las ovejas son el ganado predominante en Albacete: en 2003 había 700.000 ovejas en la provincia (1,9 ovejas por habitante)²¹. Las ovejas son también una de las especies implicadas con mayor frecuencia como fuente de infección humana^{22,23}. Se requieren más estudios para determinar el papel que las ovejas y otros ungulados domésticos pueden desempeñar en la transmisión de la fiebre Q a los seres humanos en Albacete.

En nuestro estudio, el 90% de los donantes seropositivos no referían contacto con animales de granja. Por lo tanto, en Albacete la mayoría de las infecciones no están ligadas a una exposición profesional específica. Más bien parece que una proporción significativa de la población general (sin contacto habitual con animales de granja) está expuesta a la infección. La transmisión de *C. burnetii* por el viento desde las zonas de actividad ganadera hasta los núcleos de población podría quizás explicar este hallazgo^{23,24}.

No hemos encontrado indicios de que las mascotas (perros, gatos, aves de jaula) desempeñen un papel en la transmisión de la fiebre Q en nuestra área. Sin embargo, nuestros resultados no excluyen que las mascotas puedan estar implicadas en la transmisión de la fiebre Q a seres humanos en algunos casos.

Se han descrito reacciones serológicas cruzadas entre *C. burnetii* y otras bacterias, como *Bartonella henselae*, *B. quintana*²⁵ y *Legionella micdadei*²⁶. Por ello no podemos descartar que parte de la seroprevalencia detectada en nuestro estudio se deba a esas reacciones cruzadas.

Finalmente, nuestros resultados plantean la cuestión de si hay riesgo de transmisión de la fiebre Q por transfusión de sangre de donantes seropositivos. La normativa actual exige excluir como donantes de sangre a las personas que han padecido una fiebre Q hasta 2 años después de la curación^{5,6}. La fiebre Q transmitida por transfusión es aparentemente rara. Sólo hay un caso documentado de fiebre Q asociada a transfusión⁴. En ese caso, el donante estaba en el período de incubación de la fiebre Q aguda (y por lo tanto era presumiblemente seronegativo) cuando donó la sangre. No hay información sobre la infectividad de los donantes seropositivos y no se ha documentado la transmisión de la fiebre Q por transfusión de sangre de dichos donantes. En estudios con reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de casos de fiebre Q aguda, el ADN de *C. burnetii* se detecta frecuentemente en el suero durante las primeras 2 semanas tras el inicio de la enfermedad, pero la PCR se negativiza cuando aparecen los anticuer-

pos²⁷. Por otro lado un grupo de investigadores ha detectado, en la médula ósea de individuos seropositivos asintomáticos, ADN de *C. burnetii* años después de un episodio de fiebre Q aguda²⁸. La alta prevalencia de anticuerpos frente a *C. burnetii* que hemos encontrado en donantes de sangre, junto con la incertidumbre sobre la potencial infectividad de los individuos seropositivos, indican el interés de realizar estudios para determinar el riesgo de transmisión de la fiebre Q por transfusión sanguínea en áreas endémicas como la nuestra.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado con una beca del Complejo Hospitalario Universitario de Albacete.

Bibliografía

- Maurin M, Raoult D. Q fever. Clin Microbiol Rev. 1999;12:518-53.
- Marrie TJ, Durant H, Williams JC, Mintz E, Waag DM. Exposure to parturient cats: a risk factor for acquisition of Q fever in Maritime Canada. J Infect Dis. 1988;158:101-8.
- Gardon J, Héraud JM, Laventure S, Ladam A, Capot P, Fouquet E, et al. Suburban transmission of Q fever in French Guiana: evidence of a wild reservoir. J Infect Dis. 2001;184:278-84.
- Goldberg JS, Perkins HA, Zapitz VM, Hurst BB, Suther D, Jensen F, et al. Q fever - California. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 1977;26:86,91.
- Boletín Oficial del Estado. Real Decreto 1088/2005 por el que se establecen los requisitos técnicos y condiciones mínimas de la hemodonación y de los centros y servicios de transfusión. BOE núm 225, 20/09/2005.
- Diario Oficial de la Unión Europea. Directiva 2004/33/CE de la Comisión por la que se aplica la Directiva 2002/98/CE del Parlamento Europeo y del Consejo en lo que se refiere a determinados requisitos técnicos de la sangre y los componentes sanguíneos. DO núm L 91, 30/3/2004.
- Ausina V, Sambeat MA, Esteban G, Luquín M, Condom MJ, Rabella N, et al. Estudio seroepidemiológico de la fiebre Q en áreas urbanas y rurales de Cataluña. Enferm Infecc Microbiol Clin. 1988;6:95-101.
- Téllez A, Martín A, Anda P, De la Fuente L, Benítez P, García C, et al. Study of *C. burnetii* human and animal seroprevalence in a rural population in Madrid Community. Eur J Epidemiol. 1989;5:444-6.
- Ruiz-Beltrán R, Herrero-Herrero JJ, Martín-Sánchez AM, Martín-González JA. Prevalence of antibodies to *Rickettsia conorii*, *Coxiella burnetii* and *Rickettsia typhi* in Salamanca province (Spain). Serosurvey in the human population. Eur J Epidemiol. 1990;6:293-9.
- Sanzo JM, García-Calabuig MA, Audicana A, Dehesa V. Q fever: prevalence of antibodies to *Coxiella burnetii* in the Basque Country. Int J Epidemiol. 1993;22:1183-8.
- Saz JV, Bacellar F, Merino FJ, Filipe A. seroprevalencia de la infección por *Coxiella burnetii* y *Rickettsia conorii* en la provincia de Soria. Enferm Infecc Microbiol Clin. 1993;11:469-73.
- Suárez-Estrada J, Rodríguez-Barbosa JI, Gutiérrez-Martín CB, Castañeda-López MR, Fernández-Marcos JM, González-Llamazares OR, et al. Seroepidemiological survey of Q fever in León Province, Spain. Eur J Epidemiol. 1996;12:245-50.
- Pascual-Velasco F, Montes M, Marimón JM, Cilla G. High seroprevalence of *Coxiella burnetii* infection in Eastern Cantabria (Spain). Int J Epidemiol. 1998;27:142-5.
- Lepe JA, Guerrero FJ, Ruiz-Calderón A, Del Castillo E, Gómez-Salvago S, Jiménez-Alonso MA, et al. Epidemiología de la fiebre Q en la zona norte de Huelva. Enferm Infecc Microbiol Clin. 1999;17:65-8.
- Bolaños M, Santana OE, Ángel-Moreno A, Pérez-Arellano JL, Limiñana JM, Serra-Majem L, et al. Seroprevalence of infection by *Coxiella burnetii* in Canary Islands (Spain). Eur J Epidemiol. 2003;18:259-62.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Anuario de Estadística Agroalimentaria 2004. Disponible en: http://www.mapa.es/es/estadistica/pags/anuario/Anu_04/indice.asp
- Letaief AO, Yacoub S, Dupont HT, Le Cam C, Ghachem L, Jemni L, et al. Seroepidemiological survey of rickettsial infections among blood donors in central Tunisia. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1995;89:266-8.
- Tissot Dupont H, Raoult D, Brouqui P, Janbon F, Peyramond D, Weiller PJ, et al. Epidemiologic features and clinical presentation of acute Q fever in hospitalized patients: 323 French cases. Am J Med. 1992;93:427-34.

19. Marrie TJ, Pollak PT. Seroepidemiology of Q fever in Nova Scotia: evidence for age dependent cohorts and geographical distribution. *Eur J Epidemiol*. 1995;11:47-54.
20. Abe T, Yamaki K, Hayakawa T, Fukuda H, Ito Y, Kume H, et al. A seroepidemiological study of the risks of Q fever infection in Japanese veterinarians. *Eur J Epidemiol*. 2001;17:1029-32.
21. Encuesta de explotaciones ganaderas. Anuario Estadístico de Castilla-La Mancha 2003. Disponible en: <http://www.ies.jccm.es/estadisticas/anuarios/2003/sectoragr.htm>.
22. Hellenbrand W, Breuer T, Petersen L. Changing epidemiology of Q fever in Germany, 1947-1999. *Emerg Infect Dis*. 2001;7:789-96.
23. Tissot-Dupont H, Amadei MA, Nezri M, Raoult D. Wind in November, Q fever in December. *Emerg Infect Dis*. 2004;10:1264-9.
24. Hawker JI, Ayres JG, Blair I, Evans MR, Smith DL, Smith EG, et al. A large outbreak of Q fever in the West Midlands: windborne spread into a metropolitan area? *Commun Dis Public Health*. 1998;1:180-7.
25. La Scola B, Raoult D. Serological cross-reactions between *Bartonella quintana*, *Bartonella henselae*, and *Coxiella burnetii*. *J Clin Microbiol*. 1996;34:2270-4.
26. Musso D, Raoult D. Serological cross-reactions between *Coxiella burnetii* and *Legionella micdadei*. *Clin Diagn Lab Immunol*. 1997;4:208-12.
27. Fournier PE, Raoult D. Comparison of PCR and serology assays for early diagnosis of acute Q fever. *J Clin Microbiol*. 2003;41:5094-8.
28. Marmion BP, Storm PA, Ayres JG, Semendric L, Mathews L, Winslow W, et al. Long-term persistence of *Coxiella burnetii* after acute primary Q fever. *Q J Med*. 2005;98:7-20.