

Febre Q: revisão de conceitos

Q fever: a revision of concepts

Ana Sofia Santos^{*}, Fátima Bacellar^{**}, Ana França^{***}

Resumo

A febre Q é uma zoonose de distribuição mundial causada pela *Coxiella burnetii*. Esta doença caracteriza-se por um amplo espectro de manifestações clínicas, que podem ir desde uma síndrome febril auto limitada até à endocardite e ainda a outros quadros com compromisso orgânico grave, potencialmente fatais. Em Portugal, a doença é de notificação obrigatória, mas defende-se que a sua incidência real possa estar subestimada. No sentido de alertar os clínicos para esta entidade, abordam-se os principais aspectos etiopatogénicos, epidemiológicos e clínicos da febre Q, numa revisão sobre o tema, mencionando alguns dos dados de séries nacionais.

Palavras chave: Zoonose infecciosa, Febre Q, *Coxiella burnetii*, Etiopatologia, Epidemiologia, Clínica.

Abstract

Q fever is a worldwide zoonosis caused by Coxiella burnetii. The disease has a broad spectrum of clinical behaviour, ranging from a limited febrile illness to life threatening forms such as endocarditis, with severe multi-organ involvement. In Portugal, Q fever is a notifiable disease but the official data may not accurately reflect its true incidence. This article revises the most important aetiopathology, epidemiology and clinical aspects of the disease, mentioning some of the national series in a way to sensitive physicians about Q fever.

Key Words: Infectious Zoonosis, Q Fever, Coxiella burnetii, Etiopathology, Epidemiology, Clinical aspects.

Histórico

As primeiras referências à febre Q datam de 1935, quando o então Director do Laboratório de Microbiologia e Patologia do Departamento de Saúde de Queensland (Austrália), Edward Holbrook Derrick, foi convidado a investigar o aparecimento de uma doença febril que afectava os trabalhadores do matadouro público de Cannon Hill, em Brisbane. No seu trabalho clássico, o autor relatou uma série de casos dessa patologia que, dada a sua etiologia incerta, denominou por *Query fever*.¹ O agente implicado na febre Q viria, pouco depois, a ser isolado e identificado como uma rickettsia com base em algumas características morfológicas e bioquímicas.^{2,3} Nos trabalhos da época encontram-se alusões a *Rickettsia burnetii* ou *R. diaporica*. A intensa investigação gerada

em torno deste agente colocou, no entanto, em evidência algumas particularidades biológicas díspares das outras rickettsias, determinando a sua reclassificação no novo género *Coxiella*, com a designação de *Coxiella burnetii*, em homenagem a Cox e Burnet, investigadores responsáveis pelo seu isolamento.⁴ Este género foi integrado na ordem Rickettsiales, família Rickettsiaceae, tribo Rickettsiae juntamente com o género *Rickettsia*. Todavia, a aplicação de técnicas moleculares à filogenia tem vindo a questionar essa taxonomia tradicional, demonstrando que *C. burnetii* se distancia dos demais microrganismos da ordem Rickettsiales, que são α -proteobactérias, aproximando-se de algumas γ -proteobactérias, como a *Legionella spp.* e *Francisella tularensis*.⁵ É pois de crer que a taxonomia da *C. burnetii* venha a ser revista a breve trecho, muito possivelmente com o seu radical e definitivo afastamento das rickettsias.

Após a sua descoberta na Austrália, vários surtos epidémicos e casos isolados de febre Q começaram a ser progressivamente identificados num número cada vez maior de países tendo a doença cedo adquirido um estatuto mundial, do qual é excepção apenas a Nova Zelândia.⁶ A maior sensibilização dos clínicos para esta entidade, bem como o desenvolvimento de novas técnicas de diagnóstico laboratorial, mais

*Mestre em Parasitologia Médica; Centro de Estudos de Vectores e Doenças Infecciosas, Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, Lisboa.

**Doutorada em Biologia; Centro de Estudos de Vectores e Doenças Infecciosas, Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, Lisboa.

***Assistente Graduada de Medicina Interna. Especialista de Medicina Intensiva; Hospital Garcia de Orta, Almada

Recebido para publicação a 16.06.06

Aceite para publicação a 29.11.06

sensíveis e específicas, permitiu também identificar outras formas de apresentação clínica da febre Q em complementação da descrição original de Derrick.

Actualmente, a notificação da febre Q é obrigatória em vários países, verificando-se que a sua incidência varia de uma área geográfica para outra. A título de exemplo, em França esta taxa é de 50/10⁵ habitantes, na Austrália de 3,1 a 4,9/10⁵ habitantes e na Inglaterra de 0,15 a 0,35 /10⁵ habitantes.⁷ Em Portugal, a febre Q foi reconhecida pela primeira vez em 1948, por Fonseca e colaboradores, com a descrição de 20 casos clínicos e com isolamento de seis estirpes de *C. burnetii*.⁸⁻¹⁵ Embora nunca tenham sido detectados surtos epidémicos da doença no nosso país, a sua notificação passou a ser obrigatória em 1999 (ICD10: A78) registando-se, desde então, uma incidência aproximada de 0.14/10⁵ habitantes (1999-2003).¹⁶ Contudo, defende-se que a situação da febre Q possa estar subavaliada. Num estudo recentemente realizado no Centro de Estudos de Vectores e Doenças Infecciosas, Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (CEVDI/INSA), foi possível apurar que o número de casos de febre Q confirmados serologicamente naquele Centro em 2004 e 2005, respectivamente num total de 32 casos, ultrapassam as notificações registadas pela Direcção Geral de Saúde (DGS) em igual período, contabilizadas em 11 notificações,¹⁶ apontando claramente para a necessidade de uma real avaliação da importância desta doença no nosso país.

A sensibilização e alerta para esta entidade, orientadas para uma correcta identificação da patologia e a sua definição em termos epidemiológicos, são as razões de ser deste artigo, em que se abordam os principais aspectos etiopatogénicos, epidemiológicos e clínicos, do diagnóstico ao tratamento da febre Q, numa revisão bibliográfica sobre o tema.

Etiopatogenia

C. burnetii é uma bactéria Gram negativa de pequenas dimensões (com 0,2-0,4µm de largura por 0,4-1µm de comprimento) que apresenta um ciclo de vida intracelular obrigatório, infectando vários tipos de células eucariotas e replicando-se no interior dos vacúolos fagolisossómicos. No homem as principais células alvo são os monócitos e os macrófagos.^{17,18} Até ao momento, este microrganismo é a única espécie descrita no género *Coxiella*, sendo representado por várias estirpes que formam grupos genómicos distintos.^{19,20} Esta heterogeneidade tem sido associada a diferenças

de virulência entre as estirpes, muito embora estudos recentes apontem para que seja, essencialmente, o reflexo da existência de variantes geográficas do agente.⁷ A sequência completa do genoma da estirpe Nine Mile RSA 493 foi recentemente concluída²¹ e encontra-se disponível no GenBank com o número de acesso AE016828.2.²²

Inúmeras peculiaridades biológicas distinguem a *C. burnetii* de outros microrganismos intracelulares obrigatórios. Entre os aspectos mais marcantes destacam-se a diferenciação esporogénica e elevada infecciosidade, a variação de fase no decurso da infecção e o metabolismo acidófilo, com a implícita colonização fagolisossómica das células afectadas. Estas características, que ao longo dos tempos têm surpreendido a comunidade científica, apresentam implicações directas, tanto na epidemiologia, como no diagnóstico e terapêutica da febre Q:

- A diferenciação esporogénica e a elevada infecciosidade são particularmente importantes em termos epidemiológicos. A formação de esporos, que ocorre durante o ciclo de replicação intracelular da *C. burnetii*, determina que este microrganismo apresente uma extraordinária resistência a agentes físico-químicos, mantendo-se viável fora de um organismo vivo durante longos períodos de tempo (*Quadro I*).^{7,23} Para além desta grande estabilidade ao stress ambiental, a *C. burnetii* apresenta ainda um elevado potencial infectante, estimando-se que menos de dez germes sejam suficientes para causar uma infecção.²⁴ Estas características levaram o *Center for Disease Control and Prevention* (CDC, Atlanta, EUA) a classificá-la na categoria B da lista de agentes passíveis de serem usados como armas biológicas.^{25,26} Importa no entanto referir que o impacto deste microrganismo é limitado, quando comparado com outros agentes de bioterrorismo, pois a doença que lhe está associada, embora tenha uma morbidade relativamente alta, apresenta uma baixa taxa de mortalidade.

- A variação de fase que ocorre no decurso da infecção, com a consequente modificação dos lipopolisacáridos da parede celular microbiana, determina alterações antigénicas que são de extrema importância para o diagnóstico serológico da febre Q. Assim, é possível distinguir as infecções agudas das situações crónicas pela presença de anticorpos anti-*C. burnetii* em fase II ou em fase I, respectivamente.²⁷

- A localização do agente nos vacúolos fagolisossómicos das células afectadas constitui um dos principais

obstáculos que se colocam em termos terapêuticos. A maioria dos fármacos, eficazes ao nível intracelular, é mutável pelo ambiente ácido dos fagolisossomas, apresentando apenas uma acção bacterios-tática face a infecções por *C. burnetii*.⁷

Epidemiologia

C. burnetii encontra-se largamente disseminada na natureza, tendo como principais reservatórios carraças, aves e mamíferos. Apesar de qualquer um destes grupos de animais constituir uma fonte potencial de infecção para o Homem, é no contacto com mamíferos domésticos (gado bovino, ovino e caprino, bem como, cães e gatos) que reside a base fundamental da epidemiologia da febre Q.^{7,28} Nos animais infectados, a *C. burnetii* é eliminada nas excreções, no leite, mas sobretudo nos produtos libertados durante o aborto ou parto, situação particularmente importante na epidemiologia da doença. Efectivamente, em algumas regiões a febre Q apresenta uma clara tendência sazonal, sendo associada à época de partos do gado ovino e caprino.⁷ Alguns casos de doença têm também sido descritos na sequência do contacto com gatas durante o parto e suas crias recém-nascidas.^{29,30,31}

A infecção humana é adquirida essencialmente pela inalação de aerossóis ou poeiras contendo esporos do agente resultantes do contacto directo com animais infectados e seus produtos ou com o ambiente contaminado por estes. A alta resistência do microrganismo às condições ambientais e a possibilidade de difusão por correntes de ar, pode também originar infecções indirectas, de diagnóstico difícil pela ausência de epidemiologia compatível. A importância da transmissão aérea de *C. burnetii* está patente em vários trabalhos.^{32,33} O contacto com indivíduos infectados é ainda outra forma de adquirir febre Q, embora, na prática, esta seja uma situação rara. A contaminação dos profissionais de saúde por *C. burnetii* está descrita em casos esporádicos, por contacto com parturientes infectadas³⁴ e durante a realização de autópsias.³⁵ Para além da via respiratória, há ainda possibilidade de contágio por ingestão de leite ou derivados não higienizados, defendida por Fishbein & Raoult.³⁶ A descrição de casos de infecção perinatal, por via transfusional e transplante de medula realçam a existência

QUADRO I

Exemplos da resistência de *C. burnetii* a vários agentes físico-químicos

	Condicionantes da exposição		Viabilidade
Agentes Físicos	Temperatura ambiente	solo	4 meses
		fezes de carraças	36 meses
		leite em pó	42 meses
		lã	9 meses
	Temperatura de - 20°C		36 meses
	Temperatura de 60°C		60 minutos
Radiações ultravioletas		Resistente	
Agentes Químicos	Formol a 0,5 %		3 dias
	Etanol a 50 %		15 minutos
	Hipoclorito de Sódio a 100 mg/L		Resistente
	Variações de pH		Resistente

Adaptado de Maurin & Raoult, 1999; Madariga et al, 2003).

de vias alternativas de infecção.⁷

A doença ocorre entre os 30 e os 60 anos, apesar de algumas referências a idades mais extremas,^{37,38} afectando principalmente o sexo masculino. Esta última tendência não parece estar relacionada com um maior risco de exposição ao agente, defendendo-se que possa ser antes o resultado de uma resposta imunitária menos efectiva por parte do género, determinando quadros clínicos mais exuberantes.^{7,39} Os estudos realizados no nosso país confirmam as tendências acima mencionadas. Numa série de 176 doentes com febre Q diagnosticada no Hospital de Santa Maria entre 1974-1987, verificou-se uma predominância do sexo masculino (94%), com maior prevalência dos casos entre os 30 e 50 anos (12-78 anos) e um pico de incidência no grupo etário dos 41-50 anos.⁴⁰ A revisão de 53 casos de febre Q diagnosticados nos Hospitais da Universidade de Coimbra, entre 1987-1999, também demonstrou um nítido predomínio do sexo masculino (75%), com uma idade média de 41,3 ± 14,9 anos (13-78 anos).⁴¹ Nos 32 doentes com confirmação serológica de febre Q no CEVDI/INSA entre 2004-2005, 78% eram do sexo masculino com uma idade média de 46,9 ± 18,6 anos (15-82 anos).

Estão particularmente expostos à febre Q indivíduos que têm contacto com animais e seus produtos ou com o meio rural.^{7,28} Os veterinários, pastores,

criadores de gado, trabalhadores de matadouros são alguns dos principais grupos profissionais afectados. Os caçadores podem considerar-se, também, como potencial grupo de risco.⁴² Estão igualmente expostos a esta doença os funcionários municipais dedicados à limpeza pública, bem como os clínicos, outros profissionais de saúde e investigadores que contactam directamente com amostras biológicas contaminadas.⁷

Aspectos clínicos

Inúmeras descrições das manifestações clínicas da febre Q têm sido publicadas ao longo dos tempos. A este propósito destacam-se os clássicos trabalhos portugueses, que relatam os primeiros casos da doença no nosso país.⁸⁻¹⁴ Excelentes resumos sobre este tema podem ser encontrados também em várias obras e artigos de revisão.^{7,17, 28,43-45}

A febre Q está associada a um amplo espectro de manifestações clínicas que vão desde formas assintomáticas, em cerca de 50% casos, até síndromas febris mais ou menos prolongadas, com ou sem focalizações.^{7,32} As localizações focais quando ocorrem, são variadas, sendo comum o envolvimento pleuropulmonar, hepático, neurológico e cardiovascular. A infecção pode disseminar-se, assumindo um carácter sistémico e envolvendo múltiplos órgãos em simultâneo. A doença apresenta-se habitualmente de uma forma aguda auto-limitada (em menos de 6 meses), embora, em algumas situações, evolua para a cronicidade. Os principais aspectos clínicos estão resumidos no *Quadro II*.

Febre Q aguda

A apresentação clínica da febre Q aguda é altamente variável e não específica.^{7,32} Nas formas sintomáticas podem reconhecer-se três aspectos principais: síndrome febril, pneumonia e hepatite. Os quadros de envolvimento neurológico ocorrem mais raramente.^{7,28} Outras manifestações clínicas resultantes de focalizações menos frequentes são referidas no *Quadro III*. Em qualquer das situações, a doença apresenta um curso moderado de prognóstico benigno, com um índice de complicações de 5%.⁷

A síndrome febril que caracteriza a febre Q aguda é facilmente confundível com uma virose e, salvo existam antecedentes epidemiológicos claros ou um interesse específico do médico na doença, passa muitas vezes despercebida, auto limitando-se espontaneamente.⁴³ O período de incubação varia entre 9 e 39

QUADRO II

Resumo dos principais aspectos clínicos da febre Q

Dados Clínicos

A apresentação clínica é polimórfica e não específica

DOENÇA AGUDA

Período de incubação - 2 a 3 semanas

Manifestações clínicas da doença - em 50% dos casos

Forma mais frequente – doença febril benigna auto-limitada

Outras formas frequentes – hepatite aguda e pneumonia atípica

DOENÇA CRÓNICA

Persiste por mais de 6 meses

Forma mais frequente: endocardite

Diagnóstico

DIRECTO

Visualização do agente por imunocitoquímica

Deteção de ADN específico por PCR

Isolamento in vitro do agente

INDIRECTO

Análise serológica por imunofluorescência indirecta (IFA)

Febre Q aguda (IgM e IgG anti-fase II):

- Seroconversão;

- Quadruplicação do título IgG

- Título isolado com IgM \geq 50 e IgG \geq 200

Febre Q Crónica (IgG anti-fase I):

- Título isolado com IgG \geq 800

Adaptado de Bossi et al, 2004.

dias, mas, geralmente, é de 2 a 3 semanas.⁴⁵ O quadro clínico instala-se abruptamente com febre alta (que pode atingir os 40°C), calafrios, sudorese, cefaleia retrobulbar intensa, fotofobia, artromialgia, letargia e fadiga. A presença de exantema cutâneo é um achado excepcional.⁴⁵ A duração da febre é variável, podendo ocorrer durante 1 a 3 semanas, ou mesmo mais tempo. A *C. burnetii* é uma das etiologias da síndrome febril indeterminada.^{1,7} A síndrome febril isolada ou com focalização hepática foi a forma de apresentação clínica mais frequente nas séries de casos de febre Q analisadas em Portugal.^{40,41}

A pneumonia causada por *C. burnetii*, apresenta-se com tosse (habitualmente seca), odinofagia e dor torácica.^{17,44} Na observação detectam-se apenas algumas crepitações inspiratórias pouco significativas, sendo o envolvimento pulmonar detectado por exame radiológico.⁴⁶ A radiografia do tórax mostra

frequentemente hipotransparências não segmentares e pleurais segmentares, opacidades nodulares simples ou múltiplas, derrames pleurais, atelectasias e, raramente, adenopatias hilares que a podem confundir com linfoma. Podem observar-se, ainda, infiltrados alveolares de distribuição lobar, de localização preferencial aos lobos inferiores. O quadro clínico e radiológico da pneumonia por *C. burnetii* é indistinguível dos produzidos por outros agentes responsáveis por pneumonias atípicas, objecto de diagnóstico diferencial, como *Legionella pneumophila*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia psittaci* e *Chlamydia pneumoniae*.⁴⁵

O quadro clínico da hepatite por febre Q aguda tende a durar mais tempo e manifesta-se ocasionalmente por dores abdominais (especialmente no hipocôndrio direito), anorexia, náuseas, vômitos e diarreia.^{7,28,40,47} A ocorrência de icterícia progressiva e hepatomegalia estão também descritas na literatura. O envolvimento hepático tem tradução bioquímica com o aumento da concentração de alguns enzimas hepáticos, transaminases, fosfatase alcalina, gama-glutamil transpeptidase.⁷ O padrão histológico do fígado corresponde predominantemente a uma hepatite granulomatosa sendo frequente a observação de granulomas circulares e, embora estes granulomas já tenham sido descritos noutras situações,* apresentam a particularidade de serem constituídos por anel fibrinóide e espaço central lipídico (granulomas em forma de *donut*) que os distingue.⁷ Assim, vários autores têm demonstrado o papel que a biópsia hepática pode ter como exame complementar de eleição no diagnóstico deste tipo de hepatite,^{40,47,48} ainda que os granulomas hepáticos apenas se encontrem em 3 a 10% das biópsias realizadas. Desta feita, importa referir que a presença de auto-anticorpos nesta doença, nomeadamente anticorpos anticoagulantes, pode alterar o padrão de coagulação, e potenciar o risco de hemorragia.^{7,49} Devem salvaguardar-se as limitações e as contra-indicações para biópsia com a realização de estudo ecotomográfico.^{7,45} Cerca de 5% dos doentes apresentam também esplenomegalia.⁷

Os quadros neurológicos podem ir desde a meningoencefalite ou encefalite, meningite asséptica,

mielite, nevrite óptica até neuropatia periférica.^{7,45,50-52} As cefaleias são particularmente intensas, com localização retrorbitárias. Os sinais de encefalite não são específicos mas as alterações de comportamento ou as perturbações psiquiátricas são comuns.⁴⁵

De uma maneira geral, a forma aguda é acompanhada por alterações hematológicas moderadas.^{7,17,44,45} A contagem leucocitária apresenta valores normais, mas também pode ocorrer leucocitose ou leucopenia (30% dos doentes). Em mais de um quarto dos casos, há ainda registo de trombocitopenia, mesmo na fase inicial da doença e um aumento do nível de creatinina. A velocidade de sedimentação globular pode apresentar-se moderadamente elevada, bem como as provas de função hepática, principalmente ao nível das concentrações das transaminases e fosfatase alcalina (70%), da gama-glutamiltranspeptidase, desidrogenase láctica e creatina fosfoquinase. Pode manifestar-se hiponatremia em 28% dos casos e a presença de auto-anticorpos é um achado frequente.^{7,49}

Febre Q crónica

A forma crónica da doença pode instalar-se no período de um ano, mas a sua evolução pode arrastar-se, desenvolvendo-se até 20 anos depois da infecção inicial.⁴⁵ As condicionantes deste processo ainda não estão totalmente esclarecidas, embora a febre Q crónica esteja particularmente associada a indivíduos com próteses valvulares, com valvulopatias, próteses vasculares e articulares, bem como em situações de gravidez e imunodepressão (doentes transplantados, hemodializados, com neoplasias e sida).⁷

A expressão mais frequente da febre Q crónica é a endocardite,^{7,28,43,53,54} conquanto possam ocorrer outras formas clínicas da doença (*Quadro III*). A sua incidência é baixa, estando estimada em 0,35/10⁵ habitantes em Israel, 0,1/10⁵ em França (representando 5 a 8% dos casos de endocardite diagnosticados no país) e 0,07/10⁵ na Nova Escócia e Canadá.⁷ Apesar de invulgar, a endocardite causada por *C. burnetii* é de máxima importância em termos clínicos, pois, se deixada evoluir espontaneamente, é habitualmente mortal. Esta endocardite envolve a válvula aórtica e, menos frequentemente, a válvula mitral, válvulas previamente lesadas ou com enxertos valvulares.^{7,53,54} Os doentes manifestam sintomas gerais, como febre ou febrícula, de carácter intermitente, que pode estar associada a mal estar geral, calafrios, perda de peso, anorexia, astenia e sudção nocturna.^{7,45,53}

*A hepatite granulomatosa pode ocorrer também em resultado: de situações infecciosas - tuberculose, brucelose, sífilis, histoplasmose, mononucleose, SIDA; por efeito de drogas - sulfamidas, alopurinol, carbamazepina, quinino e fenilbutazona; ou ainda noutras situações - sarcoidose, beriliose, cirrose biliar primária e linfoma.

QUADRO III

Outras manifestações clínicas de febre Q

Febre Q aguda	Febre Q crónica
Exantema maculopapular ou purpúrico, eritema nodoso, linfadenopatia; Anemia hemolítica; Tiroidite, bronquiolites agudas, colecistite, pancreatite, gastroenterite, paniculite mesentérica, paniculite lobular, epididimite, orquite, prostatite aguda; Miocardite, pericardite; Miosite, osteoartrite; Síndrome de Guillain-Barré, polineuropatia; Tromboflebite; Derrame pleural eosinófilo; Ruptura espontânea do baço, hemofagocitose histolítica.	Infecções de: aneurismas, próteses vasculares Osteomielite, osteoartrite; Hepatite crónica isolada (complicada por fibrose hepática ou cirrose); Fibrose pulmonar; Pseudo-tumor inflamatório do pulmão; Bronquite/angeíte/amilóide; Endometrite com aborto; Vasculite cutânea.
Adaptado de Maurin & Raoult, 1999.	

São também habituais outros quadros sugestivos de envolvimento cardíaco, como insuficiência cardíaca, dispneia, edema pulmonar agudo, angina, palpitações, disfunção valvular, assim como hemólise, glomerulonefrite ou acidente cerebrovascular.

Em virtude da longa duração do processo inflamatório, a endocardite por febre Q crónica é acompanhada por alterações hematológicas acentuadas.⁷ Em mais de metade dos casos verifica-se anemia, trombocitopenia e alteração da função hepática. É habitual a ocorrência de hipergamaglobulinemia e a velocidade de sedimentação está significativamente aumentada. São frequentes diversas alterações imunológicas, como a presença de factor reumatóide, imunocomplexos, crioglobulinas e vários auto-anticorpos.^{7,45,53} Neste tipo de endocardite as hemoculturas convencionais são repetidamente negativas.⁵⁵ Outros exames podem ser reveladores da doença, evidenciando arritmia, hipertrofia ventricular, cardiomegalia ou agravamento da disfunção valvular.^{7,53} A vegetação cardíaca típica de *C. burnetii* apresenta pequenas dimensões, sendo de difícil detecção no ecocardiograma transtorácico.⁵⁴ Consegue-se uma melhor visualização no eco transesofágico. O envolvimento hepático está frequentemente associado a este tipo de endocardite, embora a presença de granulomas seja um achado ocasional (mesmo quando presentes, nunca são do

tipo dos descritos nas infecções agudas). O padrão histológico predominante do fígado corresponde a uma hepatite reactiva inespecífica com infiltrações linfocitárias e necrose centrolobular pontual.⁷ As manifestações periféricas de endocardite por febre Q são comuns.^{7,53} Os doentes afectados podem manifestar hipocratismo digital e exantema purpúrico, principalmente nas extremidades e nas mucosas, resultante da vasculite por deposição de imunocomplexos. Pode também ocorrer esplenomegalia e hepatomegalia de consistência firme, principalmente em doentes com uma longa evolução clínica. O envolvimento renal com hematúria microscópica

está também descrito, correspondendo a glomerulonefrite causada pela deposição de imunocomplexos. Verificam-se ainda manifestações tromboembólicas, afectando sobretudo o baço, rins e encéfalo, mas também as extremidades.

Diagnóstico

Em resumo, poderemos dizer que se deve colocar a hipótese clínica de febre Q sempre que estamos perante:

1. Um quadro febril de origem desconhecida, com especial referência a cefaleias e a alterações da função hepática com antecedentes epidemiológicos compatíveis;
2. Hepatite ou colangite;
3. Pneumonia, especialmente se cursa de forma atípica;
4. Meningite, encefalite, pericardite, hepatite isolada, e outras situações mais raras;
5. Endocardite, quando as hemoculturas são repetidamente negativas;
6. Febre ou febrícula intermitente e alterações do estado geral em pacientes com valvulopatias ou portadores de próteses valvulares vasculares, bem como em indivíduos imunocomprometidos.

Nestas situações, os testes laboratoriais específicos são imprescindíveis, visto ser virtualmente impossível

o diagnóstico definitivo da febre Q baseado apenas nos aspectos clínicos da doença. Os testes disponíveis são de dois tipos: directos, que visam objectivar a presença do agente (visualização, análise molecular e isolamento) ou indirectos, que detectam anticorpos produzidos na sequência da infecção (análises sero-imunológicas).

A visualização da *C. burnetii* nos tecidos afectados é conseguida pela marcação do agente por técnicas de imunocitoquímica. Este método adequa-se ao estudo de válvulas cardíacas e de tecido vascular, mas apresenta limitações em relação a outro tipo de amostras, em virtude do reduzido número de microrganismos que caracteriza a infecção.^{7,18}

A análise molecular com recurso à reacção de polimerase em cadeia, simples (PCR) ou duplicada (*nested PCR*) é outra alternativa de diagnóstico directo. Existem diversos pares de oligonucleotídeos que podem ser usados na detecção do ADN da *C. burnetii*. Na sua grande maioria, amplificam segmentos dos genes 16S *rDNA*, *sodB*, *gltA* e *htpAB*.²⁷ Esta técnica permite, virtualmente, o estudo de todos os tipos de amostras disponíveis, embora alguns autores apresentem reservas quanto à sua utilidade face a amostras de sangue total e soro.⁷ Para melhores resultados o sangue total deve ser colhido em EDTA.

O isolamento da *C. burnetii* é ainda outra técnica directa para confirmar o diagnóstico de febre Q. A cultura do agente pode ser tentada em vários tipos de células de crescimento contínuo *in vitro*, sendo particularmente adequadas as linhas de tipo macrófágico (P388D1 e J774), fibroblástico (L929) e endotelial (Vero).^{7,27} Diversas amostras são adequadas à tentativa de isolamento da *C. burnetii*, tais como sangue total colhido em heparina, plasma, liquor, medula óssea, válvulas cardíacas, aneurismas e próteses vasculares, biopsias ósseas e hepáticas, bem como amostras de placenta.²⁷ A técnica baseia-se na centrifugação das amostras sobre uma monocamada de células, designada por técnica de *shell-vial*.⁵⁶⁻⁵⁸ Embora muito específica esta técnica não é particularmente sensível, pelo que, geralmente, é realizada em paralelo com a detecção molecular do agente. Acresce-se o facto de que o crescimento da *C. burnetii* é lento, podendo levar duas semanas ou mesmo mais tempo, o que torna moroso o resultado da confirmação laboratorial.

Os testes directos devem ser realizados em amostras colhidas antes do início da antibioterapia, excepto quando se pretende fazer um acompanhamento da

evolução da infecção face à antibioterapia instituída. As amostras devem ser refrigeradas a 4°C, mantidas no recipiente de colheita para garantir condições de esterilidade (situação indispensável caso se pretenda fazer o isolamento do agente) e enviadas no frio para o laboratório (idealmente nas 24h subsequentes à colheita). Os testes directos são particularmente úteis na confirmação de uma infecção activa por *C. burnetii*; porém, poucos laboratórios estão aptos a executá-los. A alta infecciosidade do agente condiciona que a análise de amostras infectadas seja realizada por operadores experientes e em laboratórios com nível de segurança biológica 3 (numa escala de 4), condições que nem sempre estão reunidas. Em termos práticos, é pois nas análises sero-imunológicas que a maioria das vezes assenta o diagnóstico laboratorial de febre Q.

Diversas técnicas podem ser utilizadas na detecção de anticorpos anti-*C. burnetii*, tais como microaglutinação, fixação do complemento, ELISA, imunofluorescência indirecta (IFA), e *Imunoblot*.²⁷ A IFA é a técnica de referência recomendada pela OMS para o diagnóstico da febre Q.⁵⁹ Este serodiagnóstico assenta na pesquisa de anticorpos das classes M e G, em algumas situações também da classe A, averiguando se reagem com a *C. burnetii* em fase I ou II.²⁷ O limiar de positividade ou cut-off (que é definido como a diluição a partir da qual uma amostra é considerada positiva) não é um critério universal e deve, sempre que possível, ser calculado com base na reactividade natural da população em causa. O serodiagnóstico deve ainda atender às condicionantes impostas pela própria cinética dos anticorpos. Nas infecções agudas, a resposta humoral só se desenvolve 2 a 3 semanas após a instalação do quadro clínico, mas uma vez desenvolvida é duradoura, podendo ir até um ano ou mesmo mais tempo (especialmente, para os IgG).^{60,61} Desta forma, uma única amostra com resultado negativo não exclui a possibilidade de uma febre Q aguda, uma vez que pode representar o período de pré-patência dos anticorpos específicos. Este facto é realçado por Musso e Raoult (1995), ao isolar a *C. burnetii* de doentes seronegativos.⁵⁷ Da mesma maneira, a presença de um título isolado pode não ser suficiente para elucidar se é resultado duma infecção activa ou da presença de anticorpos residuais, produzidos por uma infecção antiga. Assim, os testes serológicos para diagnóstico de uma infecção aguda devem ser realizados, sempre que possível, em duas

amostras colhidas com intervalo de 2 a 4 semanas.⁶⁰ A confirmação laboratorial de um caso de febre Q aguda é definida pela presença de anticorpos anti-fase II quando ocorre:

- a. Seroconversão;
- b. Um aumento do título de IgG, de pelo menos quatro vezes, relativamente ao título do soro anterior;
- c. Um título isolado de $\text{IgG} \geq 200$ e $\text{IgM} \geq 50$.⁶²

Geralmente, nas infecções crónicas, devido à longa evolução da doença, os títulos de anticorpos específicos são suficientemente elevados para estabelecer o diagnóstico com base numa única amostra analisada, embora seja sempre aconselhável o estudo de dois soros consecutivos. A febre Q crónica é definida pela presença de anticorpos anti-fase I com título de $\text{IgG} \geq 800$.⁶² Nestas situações é bastante frequente a presença de IgG anti-fase II, com títulos iguais ou superiores aos observados para a fase I, por vezes acompanhados também de IgM anti-fase I e II.

Apesar da importância da paridade das amostras, este critério só raramente é atendido. O CEVDI recebe anualmente amostras de mais de meio milhar de doentes com pedido de diagnóstico serológico para a *C. burnetii*, verificando-se que em menos de 20% dos casos as análises são realizadas em duas ou mais amostras de soros consecutivas.

Tratamento

Na febre Q aguda um regime antibiótico que iniba a multiplicação da *C. burnetii* é, regra geral, suficiente para permitir que o sistema imunitário controle rapidamente o processo infeccioso. Para além da terapêutica sintomática, eventualmente necessária, o tratamento de eleição assenta na prescrição de doxiciclina; a dose recomendada é de 100 mg 2 vezes/dia em adultos ou 3 mg/kg/dia (até um máximo de 200 mg) 2 vezes/dia em situações pediátricas, durante 2 a 3 semanas.⁷ A administração deste fármaco deve, contudo, ser limitada em pacientes com intolerância gástrica e é mesmo contra-indicada em grávidas e crianças com menos de 8 anos. Na primeira situação, as fluoroquinolonas, como ofloxacina (200 mg 3 vezes/dia) ou pefloxacina (400 mg 2 vezes/dia) constituem uma boa alternativa terapêutica, sendo particularmente recomendadas em doentes com meningoencefalite causada por *C. burnetii*, visto penetrarem a barreira hematoencefálica.^{7,50} No tratamento de grávidas e crianças com menos de 8 anos tem sido referido o uso de cotrimoxazole,³⁸ embora

esteja ainda por definir um regime terapêutico ideal para estas populações. Estudos *in vitro* apontam para que os novos macrólidos, como a claritromicina ou roxitromicina e as cefalosporinas de terceira geração, como a ceftriaxona, possam vir a constituir potenciais opções terapêuticas.^{7,63,64} A adição de corticosteróides ao tratamento antibiótico está preconizada nas situações de febre persistente ou com resposta imunitária exacerbada.⁴⁵

Nos doentes com predisposição para o desenvolvimento de infecção crónica as recomendações vão no sentido de que a terapêutica da febre Q aguda seja mantida enquanto durar o factor predisponente. Por exemplo, nas mulheres grávidas a terapêutica deve ser instituída durante toda a gravidez, sendo recomendado, também, pelo risco de recidivas, o estreito acompanhamento de gestações ulteriores. Na restante população de risco, em especial nos doentes com valvulopatias, a terapêutica pode manter-se indefinidamente ou, se possível, ser substituída pela preconizada para as situações crónicas. Segundo Fenollar e colaboradores, 39% dos doentes com febre Q aguda e doença valvular vêm a desenvolver endocardite nos 2 anos subsequentes à infecção.⁶⁵

O tratamento da febre Q crónica exige um regime antibiótico bactericida, para prevenir recidivas. As orientações actuais apontam para um tratamento combinado de fármacos que possuam máxima actividade intracelular com agentes lisossomotrópicos alcalinizantes que, ao aumentar o pH nos fagolisossomas celulares, promovam uma actividade bactericida dos primeiros. O regime de eleição consiste na prescrição de doxiciclina (100 mg 2 vezes/dia) em associação a hidroxiquina (200 mg 3 vezes/dia) durante pelo menos 18 meses. A diminuição da susceptibilidade de algumas estirpes da *C. burnetii* à doxiciclina obriga à monitorização e ajuste do nível sérico deste antibiótico em 4,5 µg/ml, podendo para tal ser aumentada a sua dosagem até um máximo de 500 mg/dia.^{7,66} Nas estirpes resistentes à doxiciclina tem sido preconizada a associação de hidroxiquina com telitromicina.⁶⁷ Os níveis de cloroquina devem também ser monitorizados para garantir a manutenção de uma concentração de $1 \pm 0,2$ mg/litro, embora a intolerância a este fármaco obrigue, frequentemente, a uma redução da dosagem. Segundo Maurin & Raoult, na grande maioria dos casos a dose de hidroxiquina foi reduzida para 400 mg entre os 3 e 6 meses de tratamento e para 200 mg após os 6 meses.⁷ A hidroxiquina

usada nas dosagens terapêuticas pode ter também alguns efeitos prejudiciais, incluindo o risco da deposição retiniana, pelo que a sua acumulação deve ser avaliada em exames oftalmológicos trimestrais. Nos pacientes em que este fármaco não pode ser instituído, a alternativa terapêutica recomendada consiste na administração de doxiciclina (na dosagem referida) em associação a ofloxacina (200 mg 3 vezes/dia) durante pelo menos três anos.⁶⁸ Ambos os regimes apresentam eficácia comparável relativamente à redução da taxa de mortalidade, que se cifra em menos de 5%; porém, as recidivas são mais frequentes no último regime terapêutico (ocorrendo em mais de 50% dos casos submetidos a doxiciclina/ofloxacina e em 14,3% dos regimes doxiciclina/hidroxicloroquina).⁶⁸ Para tratar algumas manifestações imunológicas da febre Q crónica, como vasculite cutânea ou glomerulonefrite pode ser necessário o uso transitório de corticóides. A cirurgia de substituição valvular tem sido proposta como complemento ao tratamento antibiótico da endocardite por *C. burnetii*. Contudo, esta intervenção deve estar reservada apenas para os casos que se apresentem com deterioração hemodinâmica, uma vez que os resultados não são claros e não está garantida a erradicação do agente por esta via, voltando as próteses implantadas a ser colonizadas.⁷

Durante a terapêutica da febre Q crónica deverá ser instituído um programa de vigilância clínica e biológica mensal (incluindo hemograma, determinação da concentração dos enzimas hepáticos e, se possível, dos fármacos instituídos, tipificação linfocitária e serologia). Tem sido descrito que o aumento dos enzimas hepáticos e a inversão dos linfócitos CD4/CD8, assim como a presença de interleucina 10 (IL 10), são indicadores da reactivação do agente.^{7,69} É também aconselhada uma avaliação cardíaca e oftalmológica (em caso de administração de cloroquina) trimestral. No caso de uma resposta clínica favorável e da melhoria dos parâmetros analíticos gerais, o acompanhamento serológico pode orientar o tempo em que o tratamento deve ser mantido. Desta forma, preconiza-se a suspensão da terapêutica quando se verificarem títulos anti-fase I de IgG < 400 e IgM/IgA < 50.^{7,34} O risco de recidivas obriga, no entanto, a um acompanhamento periódico do doente. Assim, preconizam-se avaliações mensais nos primeiros 6 meses após o tratamento, passando para trimestrais nos 6 meses subsequentes, bianuais nos dois anos seguintes e a partir daí com uma periodicidade anual. É ainda recomendada a

realização bianual de um ecocardiograma durante os dois primeiros anos.⁷

Comentário final

Apesar da febre Q ser encarada como uma doença “benigna” auto limitada, a morbidade que lhe está associada, principalmente nas situações crónicas, assume a médio-longo prazo grande importância em termos de saúde individual, com diminuição acentuada da qualidade de vida e incapacidade total ou parcial, que se repercute socialmente no ambiente familiar e da comunidade. Sob o ponto de vista económico, representa um esforço suplementar do doente e familiares, assim como do Estado, com um ónus suplementar para as instituições de saúde e uma perda real de capacidade em termos de mercado de trabalho.

Desta forma, a problemática da febre Q deverá ser encarada numa perspectiva de sensibilização dos clínicos para a ocorrência da doença, para a importância do diagnóstico atempado e para a vigilância dos doentes expostos, como forma de prevenção de potenciais situações crónicas.

A notificação oportuna dos casos identificados conduz a uma avaliação epidemiológica correcta e a um planeamento mais eficaz dos recursos. ■

Bibliografia

1. Derrick EH. “Q” fever, new fever entity: clinical features, diagnosis and laboratory investigation. *Med J Aust* 1937; 2:281-299.
2. Burnet FM, Freeman M. Experimental studies on the virus of Q fever. *Med J Aust* 1937; 2:299-302.
3. Cox HR, Bell EJ. The cultivation of *Rickettsia diaporica* in tissue culture and in the tissues of developing chicken embryos. *Public Health Rep* 1939; 54:2171-2175.
4. Philip CB. Comments on the name of the Q fever organism. *Public Health Rep* 1948; 63:58-59.
5. Weisburg WG, Dobson ME, Samuel JE et al. Phylogenetic diversity of the *Rickettsiae*. *J Bacteriol* 1989; 171(8):4202-4206.
6. Hilbink F, Penrose M, Kováčová E, Kazár J. Q fever is absent from New Zealand. *Int J Epidemiol* 1993; 22(5):945-949.
7. Maurin M, Raoult, D. Q Fever. *Clin Microbiol Rev* 1999; 12(4):518-553.
8. Fonseca F, Pinto MR, Azevedo JF, Lacerda MT. Febre Q em Portugal. *Clínica Contemporânea* 1949; 3(21):1159-1164.
9. Fonseca F, Pinto MR, Azevedo JF, Lacerda MT. Febre Q em Portugal. *Clínica Contemporânea* 1949; 3(22):1218-1227.
10. Fonseca F, Pinto MR, Azevedo JF, Lacerda MT. Febre Q em Portugal. *Clínica Contemporânea* 1949; 3(23):1257-1271.
11. Fonseca F, Pinto MR, Azevedo JF, Lacerda MT. Febre Q em Portugal. *Clínica Contemporânea* 1949; 3(24):1315-1329.
12. Fonseca F, Pinto MR, Azevedo JF, Lacerda MT. Febre Q em Portugal. *Clínica Contemporânea* 1949; 3(25):1511-1516.
13. Fonseca F, Pinto MR, Azevedo JF, Lacerda MT. Febre Q em Portugal. *Clínica Contemporânea* 1949; 3(28):1567-1578.

14. Fonseca F, Pinto MR, Azevedo JF, Lacerda MT. Febre Q em Portugal. *Clinica Contemporânea* 1949; 3(29):1640-1644.
15. Pinto M. Febre Q. *Jornal do Médico* 1949; 13:305-311.
16. <http://www.dgsaude.pt>.
17. Marrie TJ. Coxiella burnetii (Q fever) pneumonia. *Clin Infect Dis* 1995; 21(3):S253-S264.
18. Brouqui P, Dumler JS, Raoult D. Immunohistologic demonstration of Coxiella burnetii in the valves of patients with Q fever endocarditis. *Am J Med* 1994; 97(5):451-458.
19. Glazunova O, Roux V, Freylikman O et al. Coxiella burnetii genotyping. *Emerg Infect Dis* 2005; 11(8):1211-1217.
20. Svraka S, Toman R, Skultety L, Slaba K, Homan WL. Establishment of a genotyping scheme for Coxiella burnetii. *FEMS Microbiol Lett* 2006; 254(2):268-274.
21. Seshadri R, Paulsen IT, Eisen JA et al. Complete genome sequence of the Q-fever pathogen Coxiella burnetii. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100(9):5455-5460.
22. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/lproks.cgi>.
23. Madariaga MG, Rezai K, Trenholme GM, Weinstein RA. Q fever: a biological weapon in your backyard. *Lancet Infect Dis* 2003; 3(11):709-721.
24. Sawyer L, Fishbein D, McDale D. Q fever; current concepts. *Rev Infect Dis* 1987; 9:935-946.
25. <http://www.bt.cdc.gov>.
26. <http://www.cfsph.iastate.edu>.
27. Fournier PE, Marrie TJ, Raoult D. Diagnosis of Q fever. *J Clin Microbiol* 1998; 36(7):1823-1834.
28. Raoult D, Tissot-Dupont H, Foucault C et al. Q fever 1985-1998. Clinical and epidemiologic features of 1,383 infections. *Medicine (Baltimore)* 2000; 79(2):109-123.
29. Kosatsky T. Household outbreak of Q-fever pneumonia related to a parturient cat. *Lancet* 1984; 2:1447-1449.
30. Langley JM, Marrie TJ, Covert A, Waag DM, Williams JC. Poker player's pneumonia: an urban outbreak of Q fever following exposure to a parturient cat. *N Engl J Med* 1988; 319(6):354-356.
31. Pinsky RL, Fishbein DB, Greene CR, Gensheimer KF. An outbreak of cat-associated Q fever in the United States. *J Infect Dis* 1991; 164(1):202-204.
32. Dupuis G, Petite J, Peter O, Vouilloz M. An important outbreak of human Q fever in a Swiss alpine valley. *Int J Epidemiol* 1987; 16(2):282-287.
33. Tissot-Dupont H, Amadei MA, Nezri M, Raoult D. Wind in November, Q fever in December. *Emerg Infect Dis* 2004; 10(7):1264-1269.
34. Raoult D, Stein A. Q fever during pregnancy - A risk for women, fetuses and obstetricians. *N. Engl J Med* 1994; 330(3):371.
35. Marmion BP, Stoker MG. Q fever in Great Britain: epidemiology of an outbreak. *Lancet* 1950; 2(22):611-616.
36. Fishbein DB, Raoult D. A cluster of Coxiella burnetii infections associated with exposure to vaccinated goats and their unpasteurized dairy products. *Am J Trop Med Hyg* 1992; 47(1):35-40.
37. Marrie TJ. Q fever in octogenarians. *Ann NY Acad Sci* 1990; 590:266-270.
38. Maltezos H, Raoult D. Q fever in children. *Lancet Infect Dis* 2002; 2(11):686-691.
39. Leone M, Honstetter A, Lepidi H et al. Effect of sex on Coxiella burnetii infection: protective role of 17 beta-estradiol. *J Infect Dis* 2004; 189(2):339-345.
40. Mendes MR, Carmona MH, Malva A, Souza RD. Febre Q. Estudo retrospectivo (casística do Serviço de Doenças Infecto-Contagiosas do Hospital de Santa Maria). *Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas* 1989; 12(3):149-157.
41. Oliveira J, Malcata L, Sá R et al. Febre Q – revisão de 53 casos (1987-1999). *Arquivos de Medicina* 2000; 4(3):46.
42. Marrie TJ, Schlech WF, Williams JC, Yates L. Q fever pneumonia associated with exposure to wild rabbits. *Lancet* 1986; 1(8478):427-429.
43. Raoult D, Marrie T. Q fever. *Clin Infect Dis* 1995; 20(3):489-495.
44. Marrie TJ. Coxiella burnetii pneumonia. *Eur Respir J* 2003; 21:713-719.
45. Bossi P, Van Loock F, Tegnell A, Gouvras G. Bichat clinical guidelines for bioterrorist agents. *Euro Surveill*. 2004; 9(12):1-5.
46. Gordon JD, MacKeen AD, Marrie TJ, Fraser DB. The radiographic features of epidemic and sporadic Q fever pneumonia. *J Can Assc Radiol* 1984; 35(3):293-296.
47. Carmo G, Reis AP, Abreu JF. Biopsia hepática: exame complementar de grande interesse no diagnóstico da febre Q. A propósito de um caso clínico. *Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas* 1989; 12(3): 193-196.
48. Marazuela M, Moreno A, Yebra M, Cerezo E, Gomez-Gesto C, Vargas JA. Hepatic fibrin-ring granulomas: a clinicopathologic study of 23 patients. *Hum Pathol* 1991; 22(6):607-613.
49. Levy P, Raoult D, Razongles JJ. Q fever and autoimmunity. *Eur J Epidemiol* 1989; 5(4):447-453.
50. Drancourt M, Raoult D, Xeridat B, Milandre L, Nesri M, Dano P. Q fever meningoencephalitis in five patients. *Eur J Epidemiol* 1991; 7(2):134-138.
51. Bernit E, Pouget J, Janbon F et al. Neurological involvement in acute Q fever: a report of 29 cases and review of the literature. *Arch Intern Med* 2000; 162(6):693-700.
52. Kofteridis DP, Mazokopakis E, Tselentis Y, Gikas A. Neurological complications of acute Q fever infection. *Eur J Epidemiol* 2004; 19:1051-1054.
53. Marrie TJ, Raoult D. Update on Q fever, including Q fever endocarditis. *Curr Clin Top Infect Dis* 2002; 22:97-124.
54. Salamand A, Collart F, Caus T et al. Q fever endocarditis: over 14 years of surgical experience in referral centre for rickettsioses. *J Heart Valve Dis* 2002; 11(1):84-90.
55. Houpiqian P, Raoult D. Blood culture-negative endocarditis in a reference center: etiologic diagnosis of 348 cases. *Medicine (Baltimore)* 2005; 84(3):162-173.
56. Raoult D, Vestris G, Enea M. Isolation of 16 strains of Coxiella burnetii from patients by using a sensitive centrifugation cell culture system and establishment of the strains in HEL cells. *J Clin Microbiol* 1990; 28:2482-2484.
57. Musso D, Raoult D. Coxiella burnetii blood cultures from acute and chronic Q-fever. *J Clin Microbiol* 1995; 33(12):3129-3132.
58. Gouriet F, Fenollar F, Patrice J-Y, Drancourt M, Raoult D. Use of shell-vial cell culture assay for isolation of bacteria from clinical specimens: 13 years of experience. *J Clin Microbiol* 2005; 43(10):4993-5002.
59. OMS. Working Group on Rickettsial Diseases-Rickettsiosis: a continuing disease problem. *Bulletin of the World Health Organization* 1982; 2(60):157-164.
60. Dupuis G, Peter O, Peacock M, Burgdorfer W, Haller E. Immunoglobulin responses in acute Q fever. *J Clin Microbiol* 1985; 22(4):484-487.
61. Guigno D, Coupland B, Smith EG, Farrell ID, Desselberger U, Caul EO. Primary humoral antibody response to Coxiella burnetii, the causative agent of Q fever. *J Clin Microbiol* 1992; 30(8):1958-1967.
62. Tissot Dupont H, Thirion X, Raoult D. Q fever serology: cut off determination for microimmunofluorescence. *Clin Diagn Lab Immunol* 1994; 1(2):189-196.
63. Torres H, Raoult D. In vitro activities of ceftriaxone and fusidic acid against 13 isolates of Coxiella burnetii, determined using the shell vial assay. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37(3):491-494.
64. Raoult D. Treatment of Q fever. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37(9): 1733-1736.
65. Fenollar F, Fournier PE, Carrieri MP, Habib G, Messana T, Raoult D. Risk factors and prevention of Q fever endocarditis. *Clin Infect Dis* 2001; 33(3):312-316.
66. Rolain JM, Boulos A, Mallet M-N, Raoult D. Correlation between ratio of serum doxycycline concentration to MIC and rapid decline of antibody levels during treatment of Q fever endocarditis. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49(7): 2673-2676.
67. Rolain JM, Lambert F, Raoult D. Activity of telithromycin against thirteen new isolates of Coxiella burnetii including three resistant to doxycycline. *Ann NY Acad Sci* 2005; 1063:252-256.
68. Raoult D, Houpiqian P, Tissot Dupont H, Riss JM, Arditi-Djiane J, Brouqui P. Comparison of 2 regimens containing doxycycline and ofloxacin or hydroxychloroquine. *Arch Intern Med* 1999; 159:167-173.
69. Capo C, Zaffran Y, Zungun F, Houpiqian P, Raoult D, Mege JL. Production of interleukin-10 and transforming growth factor by peripheral blood mononuclear cells in Q fever endocarditis. *Infect Immun* 1996; 64(10):4143-4147.