

表7 動物の飼育における注意事項

<p>望ましい衛生習慣</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 動物と接触した後の手洗いを励行する 2) 過度の密接な接触は避ける 口移しの給餌、食器の共用、寝具を共にする、入浴を共にする、などは行ってはならない 3) 動物の飼育ケージなどの掃除の時は、マスク、手袋、帽子、作業着、ゴム長靴等を利用する 4) 乳幼児が愛玩動物と接触する時は保護者が同席し、衛生対策を講ずる <p>望ましい衛生管理</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 飼育場所を清潔に保つ（室内飼育動物の場合には、とくに注意する） 2) 室内で排便、排尿をさせない 3) 動物の糞や尿は早期かつ定期的に除去・清掃する 4) 外部からの動物の侵入を防ぎ、感染症の侵入や拡散を防止する 5) 常に一般的な健康状態に注意する <p>愛玩動物の衛生管理の徹底に関するガイドライン2006より</p>

B. canis について言えば、国内にすでに定着しており⁷⁾、有効なワクチンもないことから、主として感染源動物対策と伝播経路対策になる。感染源動物対策としては、とにかく感染犬を減らすことである。そのためには、繁殖施設における予防対策がもっとも重要であると考えられる。繁殖のための種雄を介して、施設へ菌が侵入し、感染が広がることが多いために、とくに、群れのなかに新しい犬を導入する際には抗体検査を実施してから導入するべきである。伝播経路対策については、直接接触やエアロゾルによる感染が考えられることから、流産時の汚物などの処理をする際には、マスクや手袋の着用が効果的である。獣医師、獣医看護師、トリマー、犬繁殖施設従業員、犬販売・取扱業者など、ハイリスク者は日頃から職業上の感染に対する予防意識を持つておくことが重要である。



まとめ

B. canis に限らず、動物由来感染症に感染しないための最初のポイントは、衛生的な飼育環境を整え、飼育や接触にあたっては一般的な注意事項を守ることである(表7)¹⁶⁾。また、獣医師には、動物病院を訪れた飼い主に対して、衛生的な飼育を指導することも望まれている。

参考文献

- 1) Brucellosis in humans and animals. WHO/CDS/EPR/2006, 7. (http://www.who.int/csr/resources/publications/deliberate/WHO_CDS_EPR_2006_7/en/)
- 2) Pappas G, Papadimitriou P, Akritidis N, et al.: The new global map of human brucellosis. *Lancet Infect Dis*, 6: 91-99, 2006.
- 3) Memish Z.A., H.Balkhy H.H.: Brucellosis and international travel. *J Travel Med*, 11: 49-55, 2004.
- 4) 中国におけるブルセラ症. In: 病原微生物検出情報, 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局, 28 (8), 2007. (<http://idsc.nih.gov/jasr/28/330/fr3301.html>)
- 5) Greene C.E., Carmichael L.E.: Canine brucellosis. In: *Infectious diseases of the dog and cat*, 3rd ed. (C.E. Greene ed.), 369-381, Elsevier, Canada, 2006.
- 6) ブルセラ症 (2007年3月31日現在). In: 病原微生物検出情報, 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局, 28 (8), 2007. (<http://idsc.nih.gov/jasr/28/330/kj3302.html>)
- 7) Kimura M., Imaoka K., Suzuki M., et al.: Evaluation of a microplate agglutination test (MAT) for serological diagnosis of canine brucellosis. *J Vet Med Sci*, 70: 707-709, 2008.
- 8) Sewell D.L.: Laboratory-associated infections and biosafety. *Clin Microbiol Rev*, 8: 389-405, 1995.
- 9) 海外 (シリア) で感染したブルセラ症事例. In: 病原微生物検出情報, 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局, 26 (8), 2005. (<http://idsc.nih.gov/jasr/26/308/kj3083.html>)
- 10) エジプトで感染したブルセラ症事例. In: 病原微生物検出情報, 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局, 27 (5), 2006. (<http://idsc.nih.gov/jasr/27/315/kj3153.html>)
- 11) Munford R.S., Weaver R.E., Patton C., et al.: Human disease caused by *Brucella canis*. A clinical and epidemiologic study of two cases. *JAMA*, 231: 1267-1269, 1975.
- 12) Polt S.S., Dismukes W.E., Flint A., et al.: Human brucellosis caused by *Brucella canis*. Clinical features and immune response. *Ann Intern Med*, 97: 717-719, 1982.
- 13) Lucero N.E., Jacob N.O., Ayala S.M., et al.: Unusual clinical presentation of brucellosis caused by *Brucella canis*. *J Med Microbiol*, 54: 505-508, 2005.
- 14) Joint FAO/WHO expert committee on brucellosis 6th report. WHO, Geneva, 1986.
- 15) Skalsky K., Bishara J., Pittik S., et al.: Treatment of human brucellosis: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Br Med J*, 336: 701-704, 2008.
- 16) 愛玩動物の衛生管理の徹底に関するガイドライン2006-愛玩動物由来感染症の予防のために-. 厚生労働省健康局, 2006 <http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekaku-kansenshou11/02.html> #2)

ブルセラ症の推奨治療法の効果に有意差

ヒトブルセラ症の治療:無作為化比較試験の系統的レビューとメタアナリシス

Treatment of human brucellosis: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials

■目的 ブルセラ症に対する複数の治療レジメン間で有効性の差を明らかにし、定量的に評価する。

■研究デザイン ヒトブルセラ症に対して異なる抗菌薬を用いた治療レジメンと投与期間について評価している無作為化比較試験の系統的レビューとメタアナリシス。

■データ源 PubMed、CENTRAL、Lilacs、学会抄録、引用文献を使用し、言語、試験実施年、発表形式(状況)には制限を設けずに検索した。

■レビューの方法 検索、研究の選択・除外基準の適用、データの抽出、方法的な質の評価は、複数のレビューワーがそれぞれ単独で2回繰り返した。主要評価項目は、①再発(規定の治療期間終了後の再発)②失敗(overall failure;治療の失敗:予想される期間を過ぎても効果が認められない、あるいは効果が認められず治療レジメンを変更)とした。相対リスクおよび95%信頼区間を算出し、固定効果モデルで統合した。

■結果 30試験と77治療群を本解析の対象とした。失敗率はドキシサイクリン・リファンピシン療法がドキシサイクリン・ストレプトマイシン療法に比べ有意に高く、主に高い再発率が原因であった(治療失敗の相対リスク[RR], 2.80; 95%信頼区間[CI], 1.81

~4.36; 13試験; 有意な不均一性なし)。菌血症を来した患者と難治化したブルセラ症の間でも同様な結果であった。ドキシサイクリン・ストレプトマイシン療法はドキシサイクリン・リファンピシン・アミノグリコシド(3剤併用療法)に比べ治療失敗率が有意に高かった(RR, 2.50; 95% CI, 1.26~5.00; 2試験)。ゲンタマイシンはストレプトマイシンに比べ劣っているということにはなかった(非劣性)(RR, 1.45; 95% CI, 0.52~4.00; 2試験)。キノロン系抗菌薬とリファンピシンの併用療法はドキシサイクリンにリファンピシンまたはストレプトマイシンを併用した場合に比べ、効果が有意に劣っていた(RR, 1.83; 95% CI, 1.11~3.02; 5試験)。投与期間がほぼ同じだった場合、単独療法のほうが多剤併用療法よりも治療失敗のリスクが高かった(RR, 2.56; 95% CI, 1.55~4.23; 5試験)。6週間以上の治療は、それより期間の短い治療と比べ、効果が優れていた。

■結論 ブルセラ症に対して現在推奨されている抗菌薬療法の間で治療効果に有意な差が存在する。本レビューにより推奨される治療レジメンは、アミノグリコシドを含む2剤併用療法か3剤併用療法である。

表 本レビューの結果から推奨される単純ブルセラ症の治療レジメンと他のレジメンの比較

	WHO/FAO 1986 ^a	Ioannina 2007 ^b	Current review ^c
First line regimen	Doxycycline 6 weeks+rifampicin 6 weeks	Doxycycline 6 weeks+streptomycin 2-3 weeks	Doxycycline 6 weeks+rifampicin 6 weeks+gentamicin 2 weeks OR doxycycline 6 weeks+gentamicin 2 weeks
Alternative	Tetracycline 6 weeks+streptomycin 2-3 weeks	Doxycycline 6 weeks+rifampicin 6 weeks	Doxycycline 6 weeks+streptomycin 2 weeks
Second line regimen	—	Doxycycline 6 weeks+gentamicin 1 week	Doxycycline+rifampicin 6 weeks OR tetracycline 6 weeks+gentamicin/streptomycin 2 weeks
Optional, poor evidence	Co-trimoxazole	Co-trimoxazole+doxycycline+other 6 weeks OR ofloxacin or ciprofloxacin+doxycycline+/-other 6 weeks	Co-trimoxazole+doxycycline/rifampicin 6 weeks
Not recommended	—	Azithromycin OR meropenem	Monotherapy OR (<30 days of treatment OR quinolone with or without rifampicin/doxycycline

^aExamines only drugs and regimens tested in randomised controlled trials. Duration of treatment (in table) and dosing recommendations based on durations and doses most commonly used in all included trials: doxycycline 100 mg twice daily; gentamicin 240 mg once daily; rifampicin 900 mg once daily; streptomycin 1g once daily; tetracycline hydrochloride 500 mg four times a day. Aminoglycosides administered intramuscularly and other drugs orally.

解説

ブルセラ症の治療選択における重要な指針

今岡 浩一 国立感染症研究所 獣医科学部 第一室室長

ブルセラ症は、日本ではなじみは薄いですが、世界では毎年5万例以上の新規患者が発生している重大な人獣共通感染症の1つである。好発地域は西アジア、地中海沿岸、アフリカ、中南米などで、とくに家畜ブルセラ対策が不十分な地域で患者が多い。近年、中国でも患者が増加している。

ヒトに感染を起こすのは、病原性の強い順に、*Brucella melitensis* (自然宿主:ヤギ、ヒツジ)、*B. suis* (ブタ)、*B. abortus* (ウシ)である。感染動物の加熱(殺菌)不十分な乳・チーズ・肉の喫食、感染動物・流産時の汚物への接触、汚染エアロゾルの吸入で感染する。ヒト-ヒト感染は、授乳や性交などによるがまれである。少数の菌でも感染し、実験室・検査室感染も多く、取り扱いには注意を要する。*B. canis* (イヌ)も、まれにヒトに感染し、症状は軽いが発症することがある。

急性熱性疾患として、軽症ではかぜ様の症状を呈するが、関節痛・背筋痛・倦怠感を示す。間欠熱、波状熱など特徴的な熱型を示すこともある。合併症として脊椎炎や脳炎を起こすこともあり、死亡例の大半は心内膜炎による。

日本では家畜対策が奏功し、

国内で家畜から感染する可能性はない。感染症法で4類感染症に指定された1999年4月1日以降、2008年6月30日までに、届け出は10例あり¹、このうち、*B. melitensis* 感染2例は海外で感染し国内で発症、*B. abortus* 感染1例は海外で感染・治療後、国内で再発したものである。残りは*B. canis* 感染と推定されるが、感染源としてイヌが特定された症例は少ない。国内の3~5%程度のイヌが抗体陽性であり、イヌブルセラ症は国内に定着している。

治療は、細胞内寄生性のため抗菌薬の長期間投与が必要となる。また、治療が不十分な場合、再発の確率が非常に高い。

本論文中に示されたように、1986年のWHO専門家委員会による推奨療法はドキシサイクリン(DOXY) + リファンピシン(RFP)であった。しかし、2006年にWHOより出版された『*Brucellosis in humans and animals*』²では、DOXY + ストレプトマイシン(SM)とDOXY + RFPでは、通常のブルセラ症に対する効果に差はないが、脊椎炎など合併症のある症例にはDOXY + SMのほうが優れており、また、RFPは血中からのDOXYのクリアランスを早めるため、DOXY + SMを推奨してい

る。ただ、実際の治療では長期間投与となり、注射(SM)ではなく経口(RFP)で行える利便性は、治療の継続を容易にするという観点からは無視できない点でもある。

そのような中、本論文で複数の治療レジメンの有効性を解析した結果、DOXY + SMがDOXY + RFPよりも有意に優れていることが明らかとなった。また、治療の中止・変更をもたらすような副作用がゲンタマイシン(GM)のほうがSMよりも少ないことから、本論文では結論としてDOXY + GMあるいはDOXY + RFP + GMを強く推奨している。この結論は、ブルセラ症に対する治療法選択にあたって、重要な指針になると思われる。

国内のイヌは1200万頭を超え、20%の世帯で飼育されている。飼い犬からの感染例の報告もあり、獣医師で*B. canis* 抗体陽性者も見つかっているが、*B. canis* 感染は症状が軽微か無症候性である場合もあり、潜在的な感染者の調査も今後必要と考えられる。

1. ブルセラ症. 感染症発生動向調査週報. 2007.4. <http://idsc.nih.gov/disease/brucellosis/idwr200704.html>
2. *Brucellosis in humans and animals*. WHO/CDS/EPR/2006.7. http://www.who.int/csr/resources/publications/deliberate/WHO_CDS_EPR_2006_7/en/

3 ブルセラ

【病原体の特性, BSL】

わが国ではヒト、動物のブルセラ症とも最近ではほとんど発生していない。しかし食料や社会・経済面で動物への依存度が強い国や地域では、いまだに多くの患者が発生しており、公衆衛生面のみならず経済的にも重要な感染症の1つである。本症の主な分布域は地中海地域、西アジア、中東、及びアフリカとラテンアメリカの一部等である。

ブルセラ属菌は、グラム陰性、偏性好気性短小桿菌で、芽胞や鞭毛を持たず細胞内寄生性を有する。ヒトで感染報告があるのは主として *B. melitensis* (自然宿主: ヤギ, ヒツジ), *B. abortus* (ウシ), *B. suis* (ブタ), *B. canis* (イヌ) の4菌種である。現在は一属一種とされ、「*Brucella melitensis biovar~*」と分類されるが、従来からの名称で用いられることが多い。

ブルセラ属菌は10~100個と菌数が少量でも感染しやすく、環境、及び食品中で長期に生残する(表1)。汚染した乳や乳製品、食肉を加熱殺菌処理が不十分なまま摂取すること、感染動物との直接接触や、死体や流産時の汚物との接触、エアロゾルの吸入によって伝播する。動物のブルセラ対策が進んだ国では、海外からの帰国者、危険食品の摂食者、及び一部のハイリスク集団(酪農家、獣医師、と畜場従業員、実験室感染)に散発的に認められる。ヒト-ヒトの感染は、授乳、性交、臓器移植による事例が報告されているが、きわめてまれである。

症状は *B. melitensis* が最も強く、次いで *B. suis*, *B. abortus* となる。通常、潜伏期は1~3週間であるが、時に数ヶ月になることもある。症状そのものに特異的なものはなく、軽症では単に風邪様の症状を示す。総じて、他の熱性疾患と類似

しているが、筋肉・骨格系に及ぼす影響が強く、全身的な疼痛、倦怠感を示す。発熱は主に午後から夕方に認められ、時に40℃以上となることもあるが、発汗とともに朝には解熱する。このような発熱パターン(間欠熱)が数週間続いた後、症状の好転が1~2週間認められるが、再び発熱を繰り返す(波状熱)こともある。非常に再発しやすい感染症として知られる。病気の期間は、数週間から数ヶ月に及ぶこともある。臨床症状により、急性型、限局型、慢性型に分けられる(表2)。未治療時の致死率は5%程度とされる。

ただし、*B. canis* はヒトへの感染力が弱く、まれに感染・発症しても気がつかない、もしくは風邪様の症状を示すにとどまることが多い。

BSLは3である。また、病原体の管理においては、*B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. canis* が特定三種病原体に指定されており、その所持・輸送に関して厳しく制限されている。ブルセラ症は、感染症法では四類に指定されている。

【実験室のハザード及び予想されるリスク】

安全キャビネットが一般的になるまでは、実験室・検査室感染が最も多かった細菌の1つである。1976年にPikeにより報告された実験室感染サーベイランスによると、調査した実験室感染全体の10.8%がブルセラ属菌感染であった¹⁾。

安全キャビネットが普及した今日では、ブルセラ属菌であることがわかっている場合は、基本的な取扱いを守っている限りにおいては、それほど実験室感染のリスクは高くない。しかしながら、臨床検査室のようにブルセラ症であることが確定していない検体を扱う場所では、確定するまでに検査室感染してしまうリスクが依然高い。また、ワクチン株の培養中に感染・発症したケースも報

表1 環境・食品中でのブルセラ属菌の生残

環境・食品	季節・温度等	生残期間
直射日光下		4~5時間
土壤中	秋、水分90%	2~3ヶ月
糞尿中	液状	3~5ヶ月
動物の飲水中		<4ヶ月
生乳	0℃ 25~37℃	18ヶ月 24時間
バター	8℃	4~5ヶ月
冷凍肉		数ヶ月

乳汁中の菌は、62.7℃、30 min または 71.6℃、15 sec で死滅。

表2 主なブルセラ属菌のヒトでの症状

菌種	症状・特徴
<i>B. melitensis</i>	急性型： 発熱、悪寒、倦怠感、関節痛等が認められる。脾腫、リンパ節腫脹、肝腫大を認めることもある。発熱は午後から夕方にかけて認められることが多い。
<i>B. suis</i>	限局型： 心内膜炎、肺炎、骨髄炎、蹄炎及び精巣炎を認める場合が多い。心内膜炎はブルセラ
<i>B. abortus</i>	症による死亡原因の大半を占める。 慢性型： 発症後1年以上にわたって脱力感や疲労感が続く。

告されている²⁾。ブルセラ属菌の動物用ワクチン株は、ヒトに対して病原性を有する。

実験室感染における症状は、通常のブルセラ症と同様である。

血液や関節液等患者検体中のブルセラ属菌の量は通常はあまり多くはなく、従って感染リスクも比較的低い。しかしながら、それら検体を増菌培養（とりわけ液体培地を用いて）すると、感染リスクは格段に高くなる³⁾。通常の検査室で行う操作、すなわち培養液の攪拌や遠心、継代培養、カタラーゼテストやその他の生化学的性状検査を実施するだけでも、エアロゾルの発生や、予期せずこぼしてしまう危険性を高める。ただ、報告され

ている感染経路については、試験管や血液培養ボトルの予期せぬ破損によるエアロゾルが原因と考えられるものは、約20%程度と思いのほか低い。大半は、例えば培養プレートの匂いをかぐ、生菌を安全キャビネットの外で取扱う、手袋やマスク等を付けていない、口でピペット操作をする等、不適切で危険な取扱いをしたことに起因している⁴⁾。

ブルセラ属菌の検査室における感染リスクは、ブルセラ症が通常発生している地域とそうでない地域で異なってくる。日常的にブルセラ症患者を診察する機会が多い、すなわちブルセラ症の流行地域においては、その臨床症状・患者の職業等か

らブルセラ症患者である可能性を予め判断しやすい。よって、その検体に関してもブルセラ症を念頭に置いた慎重な取扱いが行われやすい。ただし、流行地域ではブルセラ属菌に接する機会が多いというリスクがあり、また概して検査室における安全面でのハードウェアが不十分であることも多い。一方、ブルセラ症患者が発生していない、もしくは非常に少ない地域においては、ブルセラ症には特異的な症状がないこと等から、患者診断時にブルセラ症が考慮されないことが多い。従って、臨床検体に関してもブルセラ症であるとの危険性を認識しないまま取扱いがちであり、感染リスクを高めることになる³⁾。

API20NE (BioMerieux) 等のキットを用いた生化学的性状検査が菌の同定に用いられるが、結果のプロファイルの類似性から *Moraxella phenylpyruvica* 等、他の菌と誤って同定されてしまうことがある。このような誤った同定は検査室感染のリスクを高めることになる^{3,5)}。

曝露事故が発生した場合、直接病原体を取扱っていた者は予防投薬を受けた方がよい。同室内にいた者についても、曝露の程度により判断するが、健康状態のフォローアップは必要である。単独の薬剤では再発率が高いため、併用療法がとられる。具体的には、600~900 mg/日の rifampin と 200 mg/日の doxycycline (急性ブルセラ症に対する WHO の推奨療法) を 3 週間にわたり投薬する。妊婦もしくは妊娠している可能性がある者については、trimethoprim-sulfamethoxazole を用いる。事故直後ならびに 2 ないし 3 週間後の血清抗体検査の結果、感染が成立したことによる抗体価の上昇が認められれば、さらに 3 週間、投薬を継続する。その後、定期的 (2~3 週間ごと) に最低 3 ヶ月間の血清抗体の検査や、必要に応じて血液培養等、細菌学的検査を実施する。感染の疑いが濃厚な時は、事故直後から授乳・性交等は避ける。

【予防法—消毒・滅菌法—】

ブルセラ症が疑われる患者の臨床検体の検査や菌の分離・同定を検査室に依頼する時には、ブル

セラ症の可能性があること、そのため取扱いに特に注意する必要があることを、同時に伝えておくべきである。

臨床検体等を含めて、ブルセラ症が疑われる検体は BSL-2 実験室内で取扱う。ブルセラ属菌であることが確定した場合は、以降すべて BSL-3 実験室内で取扱う。

使用した器具等は、70% エタノールで消毒する。その他、環境には両性界面活性剤や次亜塩素酸ナトリウムも用いられる。汚物やオートクレーブ可能なものについては、オートクレーブ (121℃, 20分) 処理を行う。 [今岡浩一]

◎文献

- 1) Pike R M: *Health Lab Sci* **33**: 41-66, 1976.
- 2) Montes J et al: *J Infect Dis* **154**: 915-916, 1986.
- 3) Yagupsky P and Baron E J: *Emerg Inf Dis* **11** (8): 1180-1185, 2005.
- 4) Sewell D L: *Clin Microbiol Rev* **8** (3): 389-405, 1995.
- 5) Robichaud S et al: *Clin Inf Dis* **38**: e119-e122, 2004.

犬 ブルセラ症 の 現 状 と 課 題

今岡浩一¹ (国立感染症研究所獣医科学部第一室長)

1 はじめに

ブルセラ症 (Brucellosis) は、ブルセラ属菌 (*Brucella* spp.) による人と動物の共通感染症である。人に感染するのは、その病原性の順に、*Brucella melitensis* (自然宿主：山羊、羊)、*B. suis* (豚)、*B. abortus* (牛、水牛)、*B.*

canis (犬) が知られている。

中でも *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis* のいわゆる家畜ブルセラ菌感染症は、世界中で患者、患者が多数発生し、家畜衛生学的のみならず公衆衛生学的にも非常に重要な疾患である [1]。

一方、*B. canis* (犬ブルセラ菌) は、人に対する病原性は弱い、犬では流産など繁殖障害を引き起こす。近年、国内の犬繁殖施設における相次ぐ流行が問題となっていることから、本稿では、犬ブルセラ症の現状と課題について述べる。

2 ブルセラ属菌

ブルセラ属菌は、グラム陰性、偏性好気性短小桿菌で細胞内寄生性をもつ。1887年に Sir David Bruce によりマルタ熱 (波状熱) の原因菌として、*Micrococcus melitensis* (*B. melitensis*) が分離され、その後、種々のブルセラ属菌も発見された。

分類学上は *B. melitensis* だけ1菌種であり、*B. melitensis* biovar *melitensis* などとされるが、病原性の違いなど1菌種表記には問題も指摘されていることから、従来の菌種名が主に使用されている。*B. canis* は犬などイヌ科の動物を自然宿主とし、rough-type (LPS が o-side chain を持たない、もしくは不完全) である。その他に、家畜衛生学的に問題になる、smooth-type (LPS が o-side chain を持つ) の *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, rough-type の *B. ovis* の4菌種、げっ歯目の *B. neotomae*, 海産哺乳類の *B. pinnipedialis*, *B. ceti* がある (表1) [1]。

3 疫 学

(1) 人

B. canis に対しては、人は感染しにくい、感染しても発症しない事が多い、発症しても軽微であり感染に気がつかないことが多い。したがって、*B. canis* 感染者数など詳細については不明である。

一方、家畜ブルセラ菌感染患者は、世界中で年間50万人以上も新規に発生しており、特に食料や社会・経済面で家畜への依存度が高い国 (地中海地域、中近東、中央アジア、中南米、アフリカなど) に多い [2]。

国内では、感染症法によりブルセラ症が4類感染症に指定された1999年4月1日以降、2008年11月30日現在までに、ブルセラ症患者13例が届け出られているが、このうち12例は2005年以降である。また、13例のうち4例は国外を推定感染地域とした家畜ブルセラ菌感染であった [3]。残りの9例は *B. canis* に対する抗体のみが陽性であることから、*B. canis* 感染であると考えられる。しかし、犬が推定感染源として報告されているのは5例のみであり、残りの感染源は不明である。また、患

表1 ブルセラ属菌の種類

種	生物型・血清型	自然宿主	人への病原性
<i>B. abortus</i>	1-6, 9	牛, 水牛	あり
<i>B. melitensis</i>	1-3	山羊, めん羊, ラクダ	あり
<i>B. suis</i>	1, 3	豚, いのしし	あり
	2	豚, 野兎	あり
	4	トナカイ, カリブー	あり
	(<i>B. rangiferi</i>)		
	5	げっ歯目	なし
<i>B. canis</i>	—	犬 (イヌ科)	あり
<i>B. ovis</i>	—	羊	なし
<i>B. neotomae</i>	—	げっ歯目	なし
<i>B. pinnipedialis</i>	?	鯨類	あり?
		(アザラシ, アシカ)	
<i>B. ceti</i>	?	クジラ目	あり?
		(クジラ, イルカ)	

Brucellosis in humans and animals. WHO/CDS/EPR/2006.7 他

¹ 連絡責任者：今岡浩一 (国立感染症研究所獣医科学部第一室)

〒162-8640 新宿区戸山1-23-1 ☎03-5285-1111 (ext. 2622) FAX 03-5285-1179

E-mail: imaoka@nih.go.jp

表2 ブルセラ症の国内事例 (感染症法指定後, 1999.4.1-2008.11.30)

番号	診断年月	報告都道府県	推定感染地	推定感染経路	症状	血清抗体検査*		菌分離
						<i>abortus</i>	<i>canis</i>	
1	2002.1	東京都	不明	ペットの犬	発熱, 食欲不振	-	陽性	(-)
2	2005.6	東京都	シリア	経口(羊肉)	発熱, 皮膚疹, 脾腫, 腹部リンパ節腫大, 関節痛	陽性	陽性	<i>melitensis</i>
3	2005.12	長野県	国内	不明	発熱, 筋肉痛, 腹痛	-	陽性	(-)
4	2006.2	東京都	エジプト	不明(吸入疑い)	発熱, 頭痛, 肝脾腫	陽性	-	<i>melitensis</i>
5	2006.6	長野県	イタリア	不明	発熱, 筋肉痛	-	陽性	(-)
6	2006.7	北海道(外国人)	エジプト	経口(ミルク)	発熱, 頭痛	陽性	-	(<i>abortus</i>)
7	2006.9	長野県	不明	不明	発熱, 脾腫	-	陽性	(-)
8	2006.10	宮城県	宮城県	不明	発熱, 中枢神経症状	-	陽性	(-)
9	2007.4	大阪府	大阪府	犬	リンパ節腫脹, 倦怠感	-	陽性	(-)
10	2008.6	埼玉県	埼玉県	飼い犬	発熱, 関節炎, 筋炎	-	陽性	(-)
11	2008.7	静岡県(外国人)	ペルー	経口感染	発熱	陽性	-	(<i>abortus</i>)
12	2008.8	愛知県	愛知県	繁殖犬	発熱, 脾腫, 肝腫大	-	陽性	<i>canis</i>
13	2008.8	愛知県	愛知県	繁殖犬	発熱	-	陽性	<i>canis</i>

*: 試験管内凝集反応。抗原は*B. abortus*または*B. canis*を使用。*B. abortus*は40倍, *B. canis*は160倍以上が陽性。

表3 国内の犬ブルセラ症集団発生の報告 (初報告から1982年まで)

調査期間	地区	飼育場・用途	流産	感染
1971.8-73.4	静岡	ビーグル犬繁殖施設	実験動物	雄:16 雌:116
1973.3-74.1	東京	ビーグル・雑種犬繁殖施設	実験動物	16/25
1974.4-74.7	東京	犬訓練学校		8/63
1977.10-77.12	東京	ビーグル犬繁殖施設	実験動物	26/85
~1980	関東地方	犬繁殖施設	ペット	16/69

1970年代後半には, 種々の調査報告。

1974.4-1982.10の報告における抗体保有率: 1,385/15,490 (8.9%)

表4 近年の犬ブルセラ症集団発生

発生年	地区	飼育場・用途	感染犬	陽性犬の処置	感染者の届出
2003	静岡	繁殖施設	51/114	不明	なし
2005~2006	沖縄	繁殖施設(2カ所)	16/83	安楽処死分または投薬治療	なし
2006~2007	大阪	繁殖施設	139/263	安楽処死分	なし
2008	愛知	ペットショップ・繁殖施設	15/37	安楽処死分	飼育者2名
2008	東京・千葉	ドッグレンタル・ドッグカフェ等	18/59	去勢	なし

者から*B. canis*が分離されたのも2008年8月の2例のみである(表2)。この2例は, 犬の繁殖に携わっていたため, 初期に血液培養が行われ, 菌分離に至ったと思われる。その他の症例では菌は分離されていないが, これは, 患者がペットオーナーもしくは犬との接触が定かでないもので, 症状もいわゆる不明熱や倦怠感であり, ブルセラ症の検査を実施するまでの期間も長く, その間に抗生物質の投与も行われていることによると思われる。

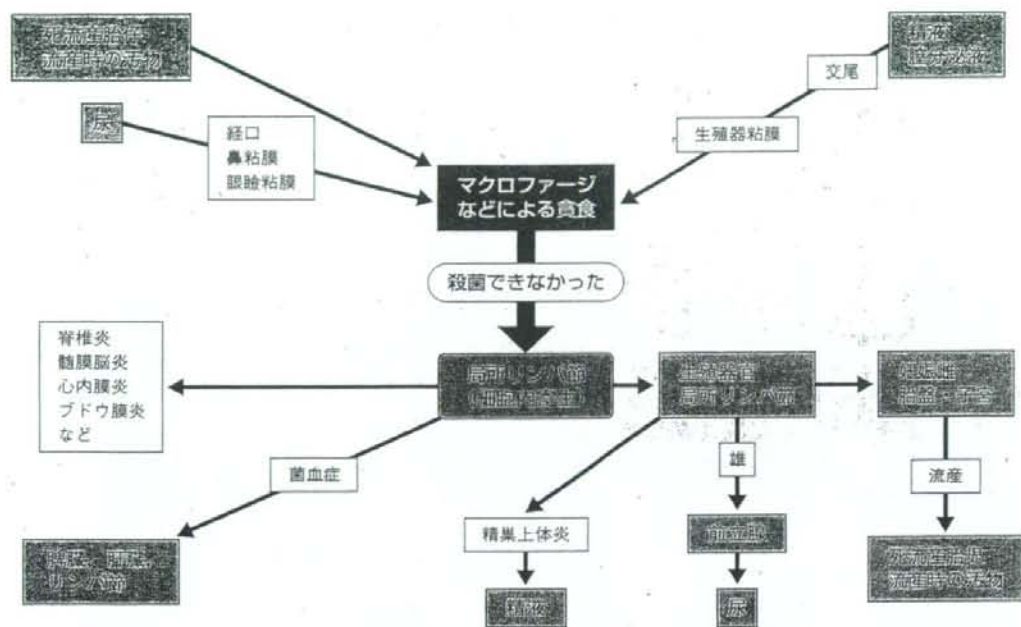
(2) 犬

*B. canis*は1962年頃から米国の犬繁殖施設で多発した流産の原因菌として, 1966年にLE Carmichaelにより同定・報告された[4]。

世界で報告があるのは, アメリカ, 中南米(メキシコ, ペルー, アルゼンチン), アジア(日本, 中国, 韓

国, インドなど), ヨーロッパの一部(ドイツ, スペイン, イタリアなど)などだが, 世界中で発生していると考えられている。日本(2~5%)やアメリカ(南部で高く, 8%)の感染率は比較的低いが, メキシコやペルーでは28%と高い。一般に, 野犬を含めて犬の密度が高く, 繁殖がコントロールされていない地域で, 感染率が高くなる[4]。

日本では, 1971年に輸入犬に起因する, 実験用ビーグル犬の繁殖施設で初めて, *B. canis*の集団感染が報告された[5]。その後も, 実験用犬施設や訓練学校などでの発生が報告されたが, やがてペット用犬でも感染が広がるようになった。1974~1982年の期間における種々の調査をまとめると, 当時は平均8.9%の犬が感染していたことになる(表3)[6]。



Greene CE and Carmicheal LE. in: Infectious diseases of the dog and cat. 369-81. 2006より改変

図1 犬ブルセラ症の感染経路と病原性

2003～2006年にかけて、我々が行った首都圏の某市動物愛護センターの犬における疫学調査では、2.5%が抗体を保有していた[7]。東京都による2001～2006年の動物愛護相談センターの調査でも4.1%が抗体を保有していた。近年は、動物愛護センターに捕獲・収容される犬もかつてペットとして飼育されていた犬がほとんどである。すなわち、今現在、国内の2～5%程度のペット用犬が抗体陽性であり、輸入犬だけでなく、主として国内の犬同士の間で病原体が維持されている（国内に定着している）と考えられる。

近年の犬繁殖施設等における集団発生事例を表4にまとめた。2003年の静岡県から2008年の愛知県の実例までは、犬繁殖施設での報告である。市場等から導入した犬が感染していたことや、繁殖施設間で繁殖用犬のやり取りの際に導入もしくは提供した繁殖用犬が感染し、施設内で感染拡大したことが考えられる。一方、2008年の東京・千葉のケースは、ドッグレンタル・ドッグカフェ・ドッグランという、従来はなかったタイプの施設での流行であった。この場合は、それぞれの施設を利用した外部の犬や人にも感染を拡大する危険があり、今後注意を要する事例であると思われる。

ただ、これらの事例はあくまでも公になった事例であり、その他にも多くの繁殖施設や犬を扱っている施設で流行しているのではないかと推測される。

4 感染経路

(1) 犬

流産時の汚物、死流産仔中には非常に多く排菌されており、最も重要な感染源となる。その他、脳分泌液や乳汁、雄犬の尿や精液中にも排菌される。ゆえに、汚物等への直接接触や汚染された飼料・水を介した経口・経鼻・経粘膜感染、エアロゾルの吸入感染、交尾による生殖器粘膜を介した感染が重要な感染経路となる(図1)[4, 6]。

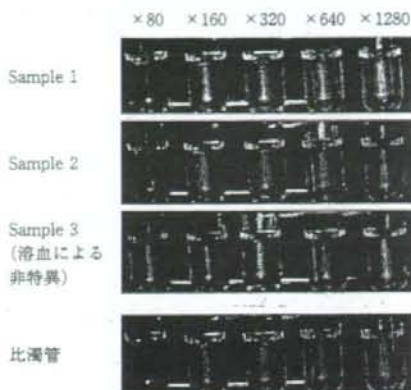
侵入した菌はマクロファージなどいわゆる貪食細胞に取り込まれるが、細胞内で殺菌できなかった場合、血液を介して脾臓、肝臓、リンパ節に潜むことになる。その後、雄では精巣上体や前立腺に、妊娠雌では胎盤へと移動し、流産を引き起こす。そして、その尿・精液、流産時の汚物などが新たな感染源となる。

(2) 人

B. canis 感染犬の流産時の汚物・死流産仔への直接接触や、エアロゾルの吸入による感染が主である。また、感染雄犬の尿や精液も感染源となりうる[4]。

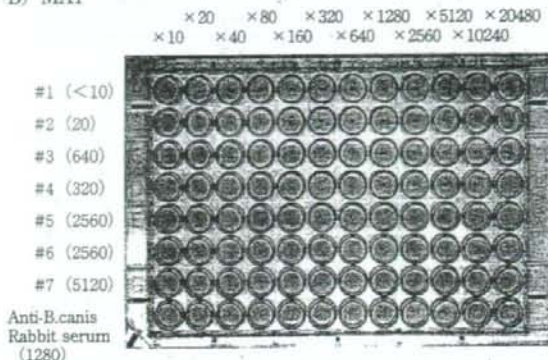
ブルセラ菌は、検査室・実験室感染事故の起こりやすい菌である。特に菌の分離培養(増菌培養)時に感染リスクは高くなる。安全キャビネットを使用しない、培養液をこぼす、培養プレートの臭いをかぐ、などにより、エアロゾルを介して感染することが知られている

A) SAT



SAT: 溶血血清は非特異的反応が出やすい
血清・抗原が大量に必要
検体数が多いと煩雑

B) MAT



MAT: 血清・抗原が少なくすむ
一度に多くの検体が処理できる
サフラニン染色により判定が容易

図2 大ブセラ症の診断 (抗体検査)

[8]. 一般の動物病院では、安全キャビネットが無いところが多いので、感染犬の血液、臓器などの検体を取り扱う際には注意が必要である。また、感染犬の去勢・不妊手術は感染や周辺を汚染するリスクが高いので、特に注意が必要である。当然、使用した器具類、手術着・手袋・マスク、手術により出たゴミ、切除した臓器等は滅菌処理を、手術台やその周辺はアルコールや次亜塩素酸ナトリウムによる消毒をしなければならない。

5 症 状

(1) 犬

B. canis 感染犬は、外見上顕著な症状を示さないことが多く、また、成犬では感染により死亡することはない。

雄犬では、精巣上体炎により精巣上体尾部が腫脹し、体液の貯留とともに陰囊全体の腫脹が見られることがある。また、違和感をおぼえるためか、しきりと陰囊をなめ、陰囊皮膚炎を起こすことがある。精巣炎や精巣の腫脹は明瞭ではなく、慢性例では逆に萎縮が見られる。性欲は減退し、精液の量も低下する。

雌犬では、通常、子宮内胎仔死亡や妊娠45～60日目の死産産が顕著な症状であり、それ以外の臨床症状を示さない。そのため繁殖施設などでは死産産の多発により初めて流行に気がつくことが多い。死産産胎仔は、腹部皮下の浮腫、出血、うっ血などを示し、部分的に自己融解していることが多い。ただ、融解している胎仔は、母犬がそれらを摂食してしまうため、見つからないことも多い。死産産後、1～6週間、茶色もしくは灰緑色の後産を出す。交配に成功した雌犬において途中で妊娠が持

続しない場合、子宮内胎仔死亡が考えられる。明らかに健康な雌犬が、出産の2週間ほど前に流産した場合は、ブセラ症が疑われなければならない [4, 6]。

感染犬の、死産ではなく生存している子犬も、出生後、通常は2～3時間以内に死亡する。まれに生き残る子犬もいるが、先天性ブセラ症のことが多い。この場合、菌はリンパ節などに潜伏し、リンパ節腫脹や高グロブリン血症を示す。やがて菌は、性成熟に伴って生殖器へと拡散していく [4]。

(2) 人

B. canis には、人は感染しにくい、感染しても発症しない事が多い、発症しても軽い風邪様 (微熱、倦怠感、筋肉痛等) であり感染に気がつかないことが多い。しかし、まれに、39℃を超えるような発熱、肝・脾腫大、肝機能障害、関節炎、筋肉痛、倦怠感、体重の極度の減少など、いわゆる家畜ブセラ菌感染と同様の症状が見られる。海外の事例ではあるが、1例紹介しておく。

18歳、男。2週間の空咳、頭痛、下部背筋痛、発熱、悪寒、7kgに及ぶ体重減少で来院。理学的所見に異常はなし。39～40℃の発熱。アセトアミノフェンにより微熱は継続していたが退院。その後、血液培養よりアンピシリン感受性の細菌 (後に *B. canis* と判明) が検出されたため、アンピシリンを処方された。約2週間後、38℃の発熱と、斑状発疹、結膜充血、咽頭紅斑、肝臓と脾臓の軽度の腫大が認められ、再度、血液培養から *B. canis* が分離された。*B. canis* に対する抗体も高値を示したため、テトラサイクリン (TC) を使用した。約1ヵ月後には抗体も低値 (陰性) を示し、寛解した。

感染源に関する疫学調査を実施した結果、飼犬が発

表5 犬ブルセラ症の薬物治療
2剤併用が原則：テトラサイクリン系+アミノグリコシド系/リファンピシン

薬 剤	用量 (mg/kg)	方 法	間 隔 (時間)	期 間 (週間)
テトラサイクリン系				
ドキシサイクリン	25	経 口	24	4
ミノマイシン	12.5	経 口	12	4
テトラサイクリン	30	経 口	12	4
アミノグリコシド系				
ストレプトマイシン	20	筋注・皮下	24	2 (1, 4週目)
ゲンタマイシン	2.5	筋注・皮下	12	2 (1, 4週目)
	5	筋注・皮下	24	2 (1, 4週目)
その他				
リファンピシン	5	経 口	24	4

Greene CE and Carmichael LE, in: Infectious diseases of the dog and cat. 369-81, 2006より

症の約1~2カ月前に流産していた。飼犬を含めて近隣の犬19頭を検査したところ、飼犬を含む2頭が抗体陽性で*B. canis*も分離され、さらに4頭が抗体陽性であった。近隣の他の住民には抗体陽性者はいなかった[9]。

6 診断と治療

(1) 犬

診断は、*B. canis*に対する抗体の検出が一般的である[6]。抗原として、ブルセラ病診断用菌液(*B. canis*死菌液、製造・販売：北里研究所生物製剤研究所)を用いた。試験管内凝集反応が行われる。血清の最終希釈倍数160倍以上で50%以上の凝集を示すものを陽性と判定する(図2)。ただ、過度に溶血した血清では抗体価が高く出やすいこと、血清や抗原が大量に必要なこと、検体数が多いと煩雑であるなどの欠点がある。民間の検査機関に検査依頼が可能である。

我々は、犬のスクリーニングは、マイクロプレート凝集反応で行っている。試験管凝集反応と原理は同じだが、96穴U底のマイクロプレートを用いる。そのため、12連マルチチャンネルピペットが使用でき、一度に多くの検体の検査が可能である。また、血清・抗原とも少量ですむ。さらに、サフラニンで着色するので、判定も容易である。試験管凝集反応の結果と整合性を持っている(図2)[7]。

病原体の検出(菌の分離・培養、遺伝子の検出)も可能である。ただ、分離・培養には時間がかかること、分離される確率が低いこと、分離された菌が*B. canis*であった場合は、その保管・所持に関して、感染症法上の規制を受けることから、スクリーニングには勧められない。また、遺伝子検査も、一次スクリーニングに用いてはならない。なぜなら、遺伝子検査が陰性だからと言って感染していないという証明にはならないからである。血液からの遺伝子検出は、基本的に菌血症を起こしてい

ないと検出できないので、感染している犬が全頭、菌血症を起こしているわけではない(リンパ節等に潜んでいる状態もある)以上、スクリーニングで用いても感染犬を見逃してしまうだけである。あくまでも流行している施設の犬などで、抗体陰性犬の中に潜む感染犬(潜伏期間中の犬)をあぶり出すことが目的で行われるべきである。

治療は、細胞内寄生性のため抗菌薬の長期間投与が必要である。また、治療が不十分な場合、再発の確率が非常に高い。単剤投与は再発の確率が高いため禁忌とされ、2剤併用が原則である。テトラサイクリン系の抗生物質(ドキシサイクリン(DOXY)、ミノマイシン、テトラサイクリン)とアミノグリコシド系(ストレプトマイシン(SM)、ゲンタマイシン(GM))またはリファンピシン(RFP)の併用投与を行う(表5)[4]。

(2) 人

ブルセラ症は多くの場合慢性経過をたどり、有症状期(風邪様症状など)でもすでに抗体を保有していることが多い。また、検体からの菌の分離・培養は困難で、時間を要する。そのため、日常的な診断では多くの場合、犬と同様に、血清診断として試験管内凝集反応が行われる。

治療も、同様に、抗生物質の併用療法になる。DOXY + SM/GM, DOXY + RFPが用いられる[1, 10]。

7 発生時の対応と予防

繁殖施設で流産が多発した場合はブルセラ症を疑うべきである。その場合、すべての犬の抗体検査を実施することになる。図3に、初回抗体検査の結果によるその後の対応の一例を記した。

初回検査の結果、陽性であった犬は、感染の拡大を防ぐために陰性犬から隔離する必要がある。1カ月間の投薬治療と可能ならば去勢・不妊手術を行い、投薬終了後、

A) 初回の抗体検査が陽性の犬に対する対応の一例 (個別飼育、陰性犬からは隔離のこと)



B) 初回の抗体検査が陽性の犬に対する対応の一例 (完全隔離 (他の犬との接触が全くない) が保たれる場合のみ適用)

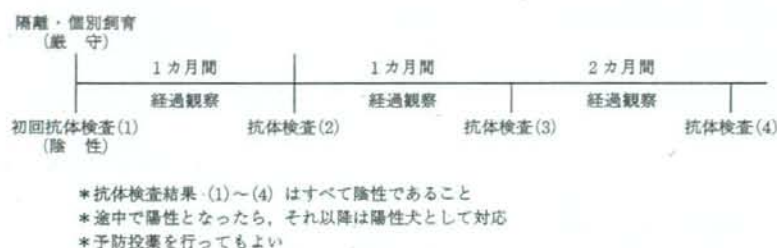


図3 B. canis 感染犬および同一施設の抗体陰性犬に対する対応の一例

2回目の抗体検査を行う。さらに期間を空けて、経過観察と抗体検査を実施する。治療効果は、抗体価の推移で判断する。投薬により一般的に抗体価は低下すると言われるが、その後も陰性値が継続するようであれば、治療効果があったと判断される。しかしながら、途中で、抗体価の上昇が認められた場合は、再発した(治療に失敗した)と判断し、再度、投薬のスケジュールからやり直すこととなる。経過観察期間は、図には投薬終了後から最低6カ月としてあるが、1年程度(さらに6カ月後に抗体検査(6)を実施)は経過観察が必要である。

次に、初回検査陰性の犬は、完全に他の犬と隔離する必要がある。陽性犬は当然ではあるが、陰性犬の中にも潜伏期の犬がいる可能性があるため、陰性犬同士の隔離が非常に重要である。個別のケージで飼育し、ケージとケージの間には、尿やえさ・水などが隣にかからないように、ついでに隔離するなどの対策を講じる必要がある。抗体検査は初回検査から1カ月後、さらに1カ月、2カ月の期間を空けて実施する。すべての検査で陰性ならば、非感染と判断される。途中で陽転した場合は、陽性犬として取り扱われる。予防投薬も選択肢の1つである。

ブルセラ症の犬をどのように扱うかについての法的根拠はない。治療、安楽殺処分が選択肢として考えられるが、現状では、その判断はあくまでも犬の所有者にゆだ

ねられている。感染犬の治療については、去勢・不妊手術は菌の重要な増殖場所や排泄源を除去することになるので、治療効果を高めるとされる。投薬治療は、長期にわたる投薬と経過観察(抗体検査を含む)を実施する必要がある。また、現在、100%効果のある治療法は存在せず、再発する例も多いとされる。個人のペットについては、去勢・不妊手術や管理も比較的容易ではあるが、繁殖施設では、去勢・不妊手術の可否、治療・観察期間の経済的負担や管理(隔離・個別飼育など)など困難な点も多い。

したがって、繁殖施設については、感染犬を出さないために、あらかじめ予防対策を取ることが最も重要である。群れの中に新しい犬を導入する際には、抗体検査など検査を実施してから導入するべきである。それも、潜伏期を避けるため、最低1カ月の期間を空けて2回行う必要がある。また、検査の間は他の犬とは接触させず、もちろん交配もさせてはいけない。大変ではあるが、清浄化を保つためには必要なことである。そして、一度清浄化してしまえば、基本的に、あとは新規に導入する犬に対して、検査を実施すればよい。ただし、その後も当然ではあるが、犬の施設間でのやりとりは、お互いに清浄化が確認されている施設以外では、避ける必要がある。

B. canis に対するワクチンは、人用、犬用ともない。家畜ブルセラ菌に対しては家畜用ワクチンが海外で

表6 動物の飼育における注意事項

望ましい衛生習慣

- 1) 動物と接触したあとの手洗いを励行する
- 2) 過度の密接な接触は避ける。
口移しの給餌、食器の共用、寝具を共にする、入浴を共にする、などは行ってはならない
- 3) 動物の排泄物、出産・流産時の汚物、飼育ケージなどの掃除の時は、マスク、手袋、帽子、作業着、ゴム長靴等を利用する
- 4) 乳幼児が愛玩動物と接触する時は保護者が同席し、衛生対策を講ずる

望ましい衛生管理

- 1) 飼育場所を清潔に保つ（室内飼育動物の場合には特に注意する）
- 2) 室内で排便排尿をさせない
- 3) 動物の糞や尿は早期かつ定期的に除去・清掃する
- 4) 外部からの動物の侵入を防ぎ、感染症の侵入や拡散を防止する
- 5) 常に一般的な健康状態に注意する

愛玩動物の衛生管理の徹底に関するガイドライン2006より

は使用されているが、人用ワクチンは、かつて旧ソ連、中国などで用いられたが、現在では用いられていない。

8 まとめ

人については、*B. canis*に限らず、動物由来感染症に感染しないための最初のポイントは、衛生的な飼育環境を整え、飼育や接触に当たっては一般的な注意事項を守ることである（表6）。また、獣医師は、診断・治療だけでなく、動物病院を訪れた飼主やかかりつけになっている繁殖施設に対して、衛生的な飼育を指導することも望まれている [11, 12]。

9 法律上の取扱い

国内では、家畜ブルセラ病については家畜伝染病予防法で、人ブルセラ症については感染症法でそれぞれ対策が取られている。また、病原体については2007年6月1日より、感染症法でその所持・保管、輸送等が厳しく制限されている。

(1) 家畜伝染病予防法

- *家畜伝染病予防法及び施行令（法第二条第一項、政令第一条）によりブルセラ病（対象動物：牛、めん羊、山羊、豚、水牛、しか、いのしし）は家畜伝染病に指定されている。
- *患者または疑似患者を発見したときは、診断した獣医師は、定められた事項（省令第二十二條）について都道府県知事に届け出なければならない（法第十三條第一項）。
- *都道府県知事は所有者に対して、当該家畜の殺処分を命ずることが出来る（法第十七條第一項）。また、患者または疑似患者の死体の所有者は、当該死体を焼却し、または埋設しなければならない。
- *法第五条第一項の規定により、少なくとも五年ごとに省令別表第一の検査方法（急速凝集反応、必要に応じて試験管凝集反応、補体結合反応）で、省令第九条第二項に規定された牛（搾乳牛、種雄牛、同居牛など）

の検査をしなければならない（省令第九条第一項）。

注：ブルセラ病の犬は対象外のため、家畜伝染病予防法上の処置を受けない。

(2) 感染症法（感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律）

*感染症法及び施行令（法第六条第五項、政令第一条）によりブルセラ症は四類感染症に指定されている。ゆえに、診断した医師は届出基準に基づいて、最寄りの保健所長を経由して直ちに都道府県知事に届け出なければならない（法第十二條）。

*感染症法及び施行令（法第六条第二十一項、政令第二條）により、*Brucella melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. canis*が三種病原体に指定されている。よって、これらの所持には厚生労働大臣への届出が必要であり、また、取扱施設が三種病原体等取扱施設基準を満たしている必要がある（法第五十六條の十六及び二十四、省令第三十一條の十七及び二十九）。

*病院や病原体等の検査を行っている機関が、業務に伴い三種病原体を所持することになり、滅菌譲渡をするまで所持することになった場合は届出は不要である（法第五十六條の十六）。ただし、定められた基準（十日以内に滅菌する、もしくは遅滞なく譲渡しをする、など）に従う必要がある（省令第三十一條の十八）。

注：（例）動物病院等で、犬ブルセラ病の検査として、分離・培養を実施した。その後、コロニーが得られたので、これを外部機関で同定したところ *B. canis*であった。この場合、菌を動物病院等で所持していれば、法の対象となり、上記項目（取扱施設基準を満たす施設があり、所持する場合は届出。施設がない場合は十日以内に滅菌する、もしくは遅滞なく譲渡し）に従う必要がある。ただし、生菌株の輸送については公安委員会への届出など、特別な輸送体制が必要となる。菌が *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis* の場合も同様である。

引用文献

- [1] Brucellosis in humans and animals. WHO/CDS/EPR/2006.7. (http://www.who.int/csr/resources/publications/deliberate/WHO_CDS_EPR_2006_7/en/)
- [2] Pappas G, Papadimitriou P, Akritidis N, et al : The new global map of human brucellosis. *Lancet Infect Dis*, 6, 91-99 (2006)
- [3] 今岡浩一他：ブルセラ症 (2007年3月31日現在), 病原微生物検出情報, 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局, 28, 227-228 (2007) (<http://idsc.nih.go.jp/iasr/28/330/kj3302.html>)
- [4] Greene CE, Carmichael LE : Canine brucellosis, *Infectious diseases of the dog and cat*, Greene CE ed, 3rd ed, pp369-381, Elsevier Inc, Canada (2006)
- [5] 山内忠平, 鈴木達雄, 野村達治 他: ビーグルの繁殖コロニーに発生したイヌブルセラ病について, *日獣会誌*, 36, 175-192 (1974)
- [6] 伊佐山康郎: 犬のブルセラ症, *獣医畜産新報*, 47, 97-101 (1994)
- [7] Kimura M, Imaoka K, Suzuki M, et al : Evaluation of a microplate agglutination test (MAT) for serological diagnosis of canine brucellosis, *J Vet Med Sci*, 70, 707-709 (2008)
- [8] Sewell DL : Laboratory-associated infections and biosafety, *Clin Microbiol Rev*, 8, 389-405 (1995)
- [9] Munford RS, Weaver RE, Patton C, et al : Human disease caused by *Brucella canis*. A clinical and epidemiologic study of two cases, *JAMA*, 231, 1257-1269 (1975)
- [10] Skalsky K, Bishara J, Pitlik S, et al : Treatment of human brucellosis : systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials, *Br Med J*, 336, 701-704 (2008)
- [11] 愛玩動物の衛生管理の徹底に関するガイドライン2006—愛玩動物由来感染症の予防のために—, 厚生労働省健康局 (2006) (<http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou11/02.html#2>)
- [12] 人と動物の共通感染症に関するガイドライン (平成19年3月), 環境省自然環境局 (http://www.env.go.jp/nature/dobutsu/aigo/2_data/pamph.html)

labmeeting

Collect this paper and discover other ones on Labmeeting. [Learn more.](#)

Found Labmeeting citation:

An outbreak of psittacosis in a bird park in Japan.

Matsui T, Nakashima K, Ohyama T, Kobayashi J, Arima Y, Kishimoto T, Ogawa M, Cai Y, Shiga S, and Ando S

Epidemiology and Infection 136(4):492-5, 2008 Apr - PubMed ID: 17559693 | Cited by | [Fulltext*](#)

- View abstract

SUMMARYAn outbreak of psittacosis related to a bird park occurred in Matsue City, Shimane Prefecture, Japan, during winter 2001. Seventeen cases of psittacosis (12 visitors, three staff, and two student interns) were confirmed. A cohort study was conducted among the park staff and students to determine the risk factors for the development of acute serologically confirmed psittacosis (SCP) infection. Being 'bird staff' had an increased risk of SCP infection (RR 3.96, 95% CI 1.48-10.58). Entering the staff building, where ill birds were maintained without proper isolation, was also associated with an increased risk of SCP infection (RR 3.61, 95% CI 1.03-12.6). Isolation of ill birds and quarantine measures were found to be insufficient. Dehumidifiers and a high-pressure water spray under a closed ventilation environment may have raised the concentration of *Chlamydia psittaci* in the hothouses. Bird park staff and visitors should be educated about psittacosis.

[Add to paper collection](#)



* Direct to fulltext link available upon signup

+ [Click here to read Related Papers](#)

[Home](#) | [About](#) | [FAQ](#) | [Contact](#) | [Jobs](#) | [Blog](#) | [Terms](#) | [Privacy](#)

against *C. trachomatis*, suggesting that CF0218 is *C. felis* specific. CF0218 transcription during the course of *C. felis* infection was confirmed by reverse transcription-PCR. By indirect immunofluorescence analysis, CF0218 was colocalized with the *C. felis*-formed inclusion bodies in the infected cells. The antibody response against CF0218 was elevated following *C. felis* infection but not by vaccination in experimentally vaccinated and infected cats. These results suggest that CF0218, a novel TMH family protein of *C. felis*, possesses potential as a *C. felis* infection-specific diagnostic antigen.

* Corresponding author. Mailing address: Laboratory of Veterinary Microbiology, Faculty of Applied Biological Sciences, Gifu University, Yanagido 1-1, Gifu 501-1193, Japan. Phone: 81-58-293-2946. Fax: 81-58-293-2946. E-mail: hfukushi@gifu-u.ac.jp

▽ Published ahead of print on 3 September 2008.

† Supplemental material for this article may be found at <http://cvi.asm.org/>.

Clinical and Vaccine Immunology, October 2008, p. 1606-1615, Vol. 15, No. 10
1071-412X/08/\$08.00+0 doi:10.1128/CVI.00134-08
Copyright © 2008, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

HOME **HELP** **FEEDBACK** **SUBSCRIPTIONS** **ARCHIVE** **SEARCH** **TABLE OF CONTENTS**

Antimicrob. Agents Chemother. Clin. Microbiol. Rev. Infect. Immun.
J. Clin. Microbiol. J. Virol. ALL ASM JOURNALS

Copyright © 2008 by the American Society for Microbiology. All rights reserved.

◀ Previous Article | Next Article ▶

Clinical and Vaccine Immunology, October 2008, p. 1606–1615, Vol. 15, No. 10
1071-412X/08/\$08.00+0 doi:10.1128/CVI.00134-08
Copyright © 2008, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Chlamydomonas felis CF0218 Is a Novel TMH Family Protein with Potential as a Diagnostic Antigen for Diagnosis of *C. felis* Infection^{▽,†}

Kenji Ohya,¹ Yu Takahara,¹ Etsuko Kuroda,¹ Saori Koyasu,¹ Shigeyuki Hagiwara,² Maki Sakamoto,² Mitsuaki Hisaka,² Kazuko Morizane,² Shinryou Ishiguro,² Tsuyoshi Yamaguchi,^{1,3} and Hideto Fukushi^{1,3*}

Laboratory of Veterinary Microbiology, Faculty of Applied Biological Sciences,¹ Department of Applied Veterinary Science, United Graduate School of Veterinary Sciences, Gifu University, Gifu 501-1193,³ Advanced Technology Development Center, Kyoritsu Seiyaku Corporation, Tsukuba 300-1252, Japan²

Received 16 April 2008/ Returned for modification 28 May 2008/ Accepted 21 August 2008

Chlamydomonas felis is a causative agent of acute and chronic conjunctivitis and pneumonia in cats (feline chlamydiosis). Also, *C. felis* is a suspected zoonotic agent of such diseases as non-*Chlamydia trachomatis* conjunctivitis in humans, although this is controversial. At present, there is no serodiagnostic system that specifically detects *C. felis* infection conveniently. Current systems use antigens such as lipopolysaccharide that cross-react with all chlamydia species. In addition, it is difficult to distinguish between cats that are vaccinated with the commercial vaccine against *C. felis* and cats that are infected with *C. felis*. Here, we describe a new candidate diagnostic antigen for diagnosis of *C. felis* infection, CF0218, that was obtained by screening a genomic expression library of *C. felis* Fe/C-56 with *C. felis*-immunized serum. CF0218 was a putative transmembrane head (TMH) family protein with bilobed hydrophobic motifs at its N terminus, and orthologues of CF0218 were not found in the *Chlamydomonas pneumoniae* or *Chlamydia trachomatis* genomes. The recombinant CF0218 was not recognized by antiserum

This Article

- ▶ [Full Text](#)
- ▶ [Full Text \(PDF\)](#)
- ▶ [Supplemental material](#)
- ▶ [Other Versions of this Article:](#)
[CVI.00134-08v1](#)
[15/10/1606](#) most recent
- ▶ [Alert me when this article is cited](#)
- ▶ [Alert me if a correction is posted](#)

Services

- ▶ [Similar articles in this journal](#)
- ▶ [Similar articles in PubMed](#)
- ▶ [Alert me to new issues of the journal](#)
- ▶ [Download to citation manager](#)
- ▶ [Reprints and Permissions](#)
- ▶ [Copyright Information](#)
- ▶ [Books from ASM Press](#)
- ▶ [MicrobeWorld](#)

Google Scholar

- ▶ [Articles by Ohya, K.](#)
- ▶ [Articles by Fukushi, H.](#)

PubMed

- ▶ [PubMed Citation](#)
- ▶ [Articles by Ohya, K.](#)
- ▶ [Articles by Fukushi, H.](#)
- ▶ [PubMed/NCBI databases](#)
 - [Nucleotide](#)
 - [Protein](#)

Disseminated infection by *Bipolaris spicifera* in an immunocompetent subject

HIROMI KOBAYASHI*, AYAKO SANOS, NAOKO ARAGANE*, MAMI FUKUJOKA†, MASAHIDE TANAKA*, FUTOSHI KAWAURA*, YUJI FUKUNO*, EIJO MATSUISHI‡ & SHINICHIRO HAYASHI*

*Division of Pulmonary Diseases, Department of Internal Medicine, and †Microbiology Branch, Department of Clinical Laboratory, Saga University Medical School, Saga, ‡Department of Internal Medicine, Saga Prefectural Hospital, Saga, and §Medical Mycology Research Center, Chiba University, Chiba, Japan

We report a case of disseminated infection due to *Bipolaris spicifera* in an immunocompetent male. Histopathological studies of lymph node, lung, and liver biopsy specimens showed a dark pigmented, granular fungal structure inside the granuloma. The disease was accompanied by the unusual feature of positive lupus anticoagulant in serum and low-density areas expanding along the portal vein in the liver. The disease responded to combination therapy with intravenous amphotericin B and voriconazole, but recurred during oral itraconazole. The fungal isolate from the lymph node was identified as *Bipolaris spicifera* on the basis of morphology and molecular biological data.

Keywords *Bipolaris spicifera*, disseminated disease, lung, liver, lupus anticoagulant

Introduction

Bipolaris species, including *B. spicifera*, *B. hawaiiensis*, and *B. australiensis* are classified among dematiaceous fungi and are causative organisms of phaeohyphomycosis. They are commonly found in soil and plant material, and are present worldwide. Diseases due to *Bipolaris* species have been reported increasingly in recent years [1,2], including dermatomycosis, keratitis, allergic sinusitis, central nervous system infections, and disseminated infection. Allergic bronchopulmonary disease [3,4], endoarteritis [5], endocarditis [6], and peritonitis [7] have also been described. Revankar and colleagues reviewed 72 patients with disseminated phaeohyphomycosis [8] and noted that eight cases were caused by *Bipolaris* species. Of these latter patients, three were immunocompetent and were from Southern Asia [9–11]. Our patient is the first case of disseminated disease reported in an immunocompetent host outside that area.

Case report

In September 2005, a 29-year-old man initially visited another hospital complaining of fever, general malaise and coughing. Increases in leukocytes and eosinophils, and hemolytic anemia were noted in peripheral blood. Chest computed tomography (CT) revealed multiple millary nodules and patchy consolidation in bilateral lungs (Fig. 1). Abdominal CT indicated low-density areas expanding along the portal vein and multiple low-density nodules in the liver (Fig. 2). Multiple lymph node swellings were found from the neck to abdominal regions. Head CT showed no signs of brain abscess and sinusitis. An examination of the bone marrow showed increases of all three series of hematopoietic cells without any atypical cells. To improve anemia and eosinophilia, high-dose corticosteroid therapy was started. Although the eosinophilia was resolved, the patient's fever persisted with the progression of liver dysfunction. Histopathological examination of the neck lymph node showed dark pigmented granular fungal structures inside granulomas. A fungus was isolated on potato dextrose agar (PDA) from a lymph node biopsy specimen. The patient was transferred to our hospital on 7 October 2005. Laboratory data on admission revealed an increase in peripheral neutrophils, mild

Received 2 May 2007; Accepted 25 December 2007

Correspondence: Shinichiro Hayashi, Division of Pulmonary Diseases, Department of Internal Medicine, Saga University Medical School, Nabeshima 5-1-1, Saga, 849-8501, Japan. Tel: +81 952 34 2356; Fax: +81 952 34 2017; E-mail hayashs@cc.saga-u.ac.jp

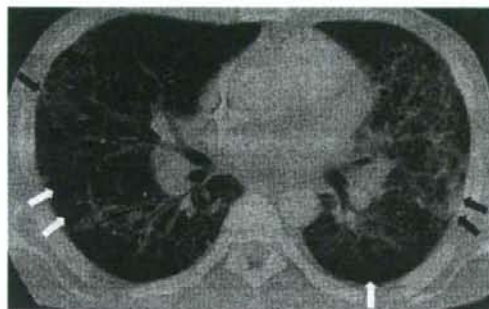


Fig. 1 Chest computed tomography shows multiple millimetric nodules (white arrows) and patchy consolidation (black arrows) in bilateral lungs.

anemia, and moderate increases of aspartate aminotransferase, lactate dehydrogenase, and bilirubin. His activated partial thromboplastin time (APTT) was prolonged and lupus anticoagulant was positive, which suggested the presence of anti-phospholipid antibody syndrome. Serum immunoglobulin levels revealed increases in IgE and IgG, while IgA and IgM remained normal. The number of CD4-positive T cells was normal and examinations for human immunodeficiency virus were negative. Repeated CT scans demonstrated increases in the number and the size of pulmonary nodules. Transbronchial lung biopsy and liver biopsy were performed on the 6th and 8th days after admission. Histological examination of these biopsy specimens demonstrated noncaseating granuloma and darkly pigmented fungi with a granular form (Fig. 3). These data suggested disseminated fungal infection. Therefore, combination therapy with intravenous amphotericin B (AMPH-B), 50 mg/day, and voriconazole (VRCZ), 400 mg/day, was started.



Fig. 2 Abdominal computed tomography shows low-density areas expanding along the portal vein (white arrows) and multiple low-density nodules (black arrows) in the liver.

icin B (AMPH-B), 50 mg/day, and voriconazole (VRCZ), 400 mg/day, was started.

The patient's symptoms started to improve two weeks after initiation of antifungal treatment. One month later, VRCZ was discontinued due to liver damage. After AMPH-B had been administered for two months with a total dosage of 2250 mg, it was switched to oral itraconazole (ITCZ), 200 mg daily. ITCZ was increased one month later to 300 mg daily, and the patient was discharged on 23 December. Trough concentrations of serum ITCZ and hydroxy-ITCZ were 1.5 µg/ml and 2.1 µg/ml, respectively. After four months of administration of ITCZ, eosinophilia and prolonged APTT reappeared. In addition, abdominal CT revealed an enlargement of the low-density area along the portal vein and diffuse multiple liver nodules. Since these findings suggested recurrence of the fungal infection, we changed ITCZ to oral VRCZ 200 mg twice daily. One month later, CT scans revealed decreases in the sizes of low-density area and nodules in the liver. The eosinophilia and prolonged APTT improved gradually. Liver damage due to VRCZ remained within acceptable limits. As of January 2007, the patient has been asymptomatic, and the CT findings have been gradually improving with the continuation of VRCZ.

The fungal isolate was deposited as IFM 55164 in the Medical Mycology Research Center, Chiba University, Japan. Colonies grown on Sabouraud dextrose agar (SDA) and PDA for 50 days at 25°C were greenish black, showing irregular margins with a few floccose textured areas. The surface exhibited radial wrinkles.

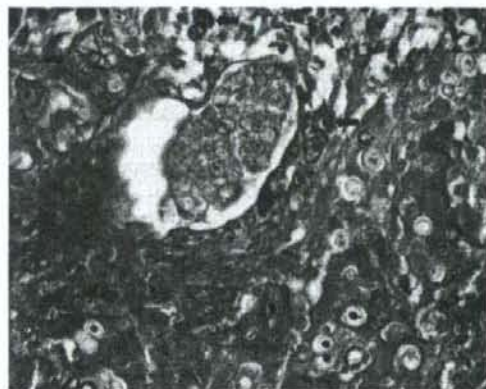


Fig. 3 Histopathological studies of liver biopsy show granular shaped fungal structure inside granulomatous inflammation. Typical presentations of fungal structure are indicated with black arrows. Grocott staining; original magnification ×400.

Microscopic examination revealed brownish black septate hyphae. Chains of moniliform cells or immature conidia consisting of two cells attached in a sympodial arrangement were observed when the organism was grown on a PDA agar block at 25°C for eight weeks in a micro-culture system. Four-celled conidia separated by distosepta were detected on the PDA slant after culturing at 25°C for six months (Fig. 4).

The fungal DNA was extracted from cultures incubated on PDA slants at 25°C for four weeks. The partial sequence of the large subunit ribosomal DNA gene (LSU rDNA) was processed by the standard method described by Kurtzman and Robnett [12], and sequenced. The sequence was deposited in the DDBJ as AB288835.

LSU rDNA sequence from paraffin-embedded tissue samples of the liver and the lymph node were evaluated. Briefly, three sections of 10 micrometer-thick paraffin embedded tissue were placed in a microtube (1.5 ml), and 0.5 ml of DEXPAT solution (Takara Bio Inc., Ohtsu, Japan) was added. After being boiled for 10 min, the tube was centrifuged at 12,000 rpm (13,201 g) for 10 min. The supernatant was processed for PCR and the DNA extracts were subjected to DNA amplification with the primers NL-1 and NL-4 for the first-round PCR. For amplification in the second-round PCR, the following internal primers, designed on the basis of the rDNA gene of the isolate were used Saga-F (5'-TTGCGCTAGTAACGGCGAGTGAAG) and Saga-R (5'-CCATTACGCCAGCATCCTAGCAGA). The PCR products were directly sequenced on an ABI PRISM 3100 sequencer using the primers Saga-F, Saga-R, NL-2, and NL-3.

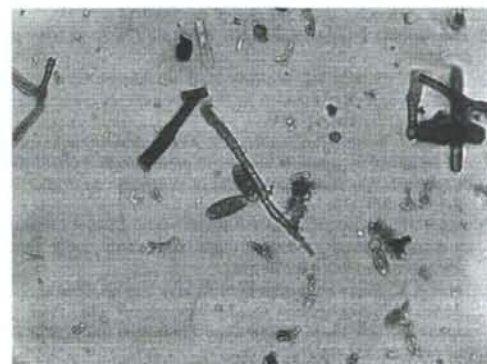


Fig. 4 Microscopic appearance of *Bipolaris spicifera* (case isolate) in the PDA slant after culturing at 25°C for six months. Original magnification; $\times 500$.

The sequence for LSU rDNA from the fungal isolate consisted of 614 bp. The detected gene sequence from paraffin embedded tissue samples of the liver and lymph node were 499 bp, and was 100% identical to those from the fungal isolate. The sequence from the fungal isolate was compared to the sequence of dematiaceous fungal species *via* nucleotide-nucleotide BLAST analysis [13]. The sequence was located at the same cluster as *Bipolaris crustacea* (AF163977), *Bipolaris papendorfii* (AF163980), *Bipolaris* spp. (AB161070), *Bipolaris spicifera* (AB161071), *Cochliobolus australiensis* (anamorph; *Bipolaris australiensis*, AF163976), *Cochliobolus hawaiiensis* (anamorph; *Bipolaris hawaiiensis*, AF163979), *Cochliobolus lunatus* (anamorph; *Curvularia lunata*, AB161073), *C. lunatus* (anamorph; *C. lunata*, AF163988), *Cochliobolus pallescens* (AY849941), *Cochliobolus ravenelii* (anamorph; *Bipolaris ravenelii*, AF163981), *Curvularia geniculata* (AB161072), *Curvularia heteropogonicola* (anamorph; *Exserohilum heteropogonicola*, AF163986), *Curvularia oryzae* (AF163991), *Curvularia senegalensis* (AB161074), in the distance tree of results. The homologies of sequences between our isolate and the above species are shown in Table 1. The isolate was identified as *Bipolaris spicifera* on the basis of morphology and molecular biological data. The minimum inhibitory concentrations of the isolate were 0.5 $\mu\text{g/ml}$, 1 $\mu\text{g/ml}$, >64 $\mu\text{g/ml}$, 2 $\mu\text{g/ml}$, and 16 $\mu\text{g/ml}$ for AMPH-B, ITCZ, fluconazole, voriconazole, and micafungin, respectively.

Table 1 Identity of large subunit ribosomal DNA sequence to related species.

Species	Accession number	Identity (%)
Present isolate	AB288835	-
<i>Bipolaris spicifera</i>	AB161071	99.3
<i>Cochliobolus lunatus</i> (<i>Curvularia lunata</i>)	AB161073	98.7
<i>Cochliobolus australiensis</i> (<i>Bipolaris australiensis</i>)	AF163976	98.6
<i>Cochliobolus pallescens</i>	AY849941	98.6
<i>Bipolaris papendorfii</i>	AF163980	98.5
<i>Bipolaris</i> spp.	AB161070	98.5
<i>Curvularia geniculata</i>	AB161072	98.5
<i>Curvularia senegalensis</i>	AB161074	98.5
<i>Cochliobolus hawaiiensis</i> (<i>Bipolaris hawaiiensis</i>)	AF163979	98.3
<i>Cochliobolus ravenelii</i> (<i>Bipolaris ravenelii</i>)	AF163981	97.8
<i>Bipolaris crustacea</i>	AF163977	97.6
<i>Curvularia heteropogonicola</i> (<i>Exserohilum heteropogonicola</i>)	AF163986	97.6
<i>Curvularia oryzae</i>	AF163991	97.0
<i>C. lunatus</i> (<i>C. lunata</i>)	AF163988	96.8

Parentthesized fungal name shows anamorph.