



Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

## Veterinary Parasitology

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/vetpar](http://www.elsevier.com/locate/vetpar)



### Short communication

## Molecular characterization of *Echinococcus granulosus* in Egyptian donkeys

Shawky Mohamed Aboelhadid<sup>a,\*</sup>, Khaled Mohamed El-Dakhly<sup>a</sup>, Tokuma Yanai<sup>b</sup>,  
Hideto Fukushi<sup>c</sup>, Kamel Mohamed Hassanin<sup>d</sup>

<sup>a</sup> Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Beni-Suef University, Beni-Suef 62511, Egypt

<sup>b</sup> Department of Veterinary Pathology, Faculty of Applied Biological Sciences, Gifu University, 1-1 Yanagido, Gifu, Japan

<sup>c</sup> Department of Microbiology, Faculty of Applied Biological Sciences, Gifu University, 1-1 Yanagido, Gifu, Japan

<sup>d</sup> Department of Biochemistry, Faculty of Veterinary Medicine, Beni-Suef University, Beni-Suef 62511, Egypt

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 15 June 2012

Received in revised form

10 November 2012

Accepted 16 November 2012

#### Keywords:

Cystic echinococcosis

Donkeys

Molecular characterization

CO1

NADH

Egypt

### ABSTRACT

The present study was carried out during the period from August 2009 to July 2010. The purpose of this study was to identify the genotype of donkeys' echinococcosis in one of the Egyptian governorates. On post-mortem inspection taking place at the zoo of Beni-Suef, Egypt, a total number of 145 donkeys were examined for the presence of hydatid cysts. Ten of these donkeys were found to be infected by hydatid cysts; and location, number and fertility of cysts found were determined. The liver was the predominant site of infection. Molecular identification of these cystic echinococcosis isolates, based on PCR amplification and the sequence of both mitochondrial ND1 and CO1, revealed that they belonged to *Echinococcus equinus* (G4 genotype). An alignment of ND1 and CO1 partial nucleotide sequences with G4 partial nucleotide sequences revealed replacement of G at position 105 with A and replacement of A at position 276 with G respectively. It can be concluded that the donkeys involved in this study were harboring *E. equinus*. For the first time in Egypt, the present work allowed us to record the presence of the *E. equinus* with the molecular tools, and to report new information on the epidemiological status of this parasite in Egypt.

© 2012 Published by Elsevier B.V.

### 1. Introduction

Hydatid disease is a zoonotic disease known to spread worldwide. It is caused by larval stages (metacestodes) of tape worm parasite of genus *Echinococcus* that infect different animal species (Rausch, 1995). These domestic animals include sheep, goats, cattle, swines, buffalos, horses, and camels (Bryan and Schantz, 1989). Human beings may also serve as dead-end hosts (Binhazim et al., 1992). *E. granulosus sensu lato* shows intraspecific variation in relation to host, specificity, epidemiology, morphology, developmental biology, biochemistry and genetics (Thompson

and McManus, 2002). Based on the genetic characterization which is mostly dependent on the homology of the sequence of the two mitochondrial genes; cytochrome C oxidase subunit 1 (CO1) and reduced nicotinamide adenine dinucleotide subunit 1 (ND1), ten different genotypes, among which G4 (horse strain) have been formerly characterized (McManus, 2002; Lavikainen et al., 2003; Snábel et al., 2009). Recent taxonomic classification suggested the presence of five valid species within the *E. granulosus* species complex. These are named *E. granulosus* s.s. (G1–G3 genotypes), *E. equinus* (G4 genotype), *E. ortleppi* (G5 genotype) and *E. canadensis* (G6–G10 genotypes) and *E. felidis* (Thompson and McManus, 2002; Nakao et al., 2010; Hüttner et al., 2008).

Equine hydatidosis, especially that of donkeys, has been studied in some countries of The Middle East; Lebanon and Jordan (Thompson and McManus, 2002). *E. equinus*

\* Corresponding author. Fax: +20 2 82 2327982;

mobile: +20 2 01008525674.

E-mail address: Drshawky2001@yahoo.com (S.M. Aboelhadid).

has been reported from the United Kingdom, Switzerland, Belgium, Italy, Syria and South Africa (Thompson and Lymbery, 1990; Varcasia et al., 2008).

*E. equinus* (formerly *E. granulosus* G4 or horse strain) appears to be a specific parasite of equids (Jenkins et al., 2005; Nakao et al., 2007; Romig et al., 2006; Thompson, 2008; Saarma et al., 2009; Blutke et al., 2010). Varcasia et al. (2008) identified two species of genus *Echinococcus* infecting horses in Italy; *E. granulosus* s.s. (old G1, sheep strain) and *E. equinus* (old G4 or horse strain). Scant information about this parasite in donkeys is available (Thompson and McManus, 2002). A study in Giza, Egypt, showed the presence of unspecified *Echinococcus* sp. in donkeys (Haridy et al., 2008). However, one of the most recent studies on RFLP patterns of CE isolates from donkeys in Egypt failed to allocate the isolates to any described strain or species (Taha, 2012). Our present work aimed to identify the genotypes of hydatid cysts isolated from Egyptian donkeys, and this was planned to be done by sequencing their PCR-amplified two mitochondrial genes; cytochrome C oxidase subunit 1 (CO1) and NADH dehydrogenase subunit 1 (ND1).

## 2. Materials and methods

### 2.1. Parasite samples

This study included 145 donkeys (over five years of age) of local origin. They were raised in different cities of Beni-Suef governorate. Beni-Suef, an Egyptian governorate, located 120 km south of Cairo. The donkeys were brought to Beni-Suef zoo for feeding lions. They were examined for the presence of hydatid cysts on post-mortem inspection at the zoo during the period from August 2009 to July 2010. Examination of all internal organs was also done by using palpation and incision for the detection of hydatid cysts. Intact hydatid cysts, isolated from the infected animals, were put separately in the polythene bags containing ice and brought to Beni-Suef Veterinary College for further processing.

Hydatid fluid was aspirated after washing the cyst with distilled water twice. It was further subjected to centrifugation at 5000 rpm for 5 min, and the sediment was examined under the low power objective of a compound microscope to observe the protoscoleces. Germinal layer (sterile cysts) and protoscoleces (fertile cysts) were randomly collected from the infected animals, and only one cyst from each infected animal was subjected to molecular characterization to assign the status of a single isolate. The material was frozen at  $-20^{\circ}\text{C}$  until further use.

### 2.2. DNA extraction

DNA was extracted from the germinal layers and/or protoscoleces using the GeneiUltrapure™ Mammalian Genomic DNA Purification Tissue Kit (Bangalore Genei); and according to manufacturer's instructions, the eluted DNA samples were subjected to dryness by putting them in oven at  $55^{\circ}\text{C}$  for 3 h. The eluted DNA samples were transferred to Japan by air to perform the PCR amplification and DNA sequencing.

### 2.3. PCR amplification

Two target sequences of the mitochondrial DNA coding for CO1 and ND1 were PCR-amplified by using Takara Ex Taq kit (Takara Biomedicals, Otsu, Japan).

Two conserved primers, JB3 (forward): 5'-TTT TTT GGG CAT CCT GAG GTT TAT-3' and JB4.5 (reverse): 5'-TAA AGA AAG AAC ATA ATG AAA ATG-3' (Busi et al., 2007), were used to amplify the mtDNA region corresponding to the part of the CO1 gene.

Two conserved primers, JB11 (forward): 5'-AGA TTC GTA AGG GGC CTA ATA-3' and JB12 (reverse) 5'-ACC ACT AAC TAA TTC ACT TTC-3' (Bowles and McManus, 1993; Bowles et al., 1994), were used to amplify the mtDNA region corresponding to the ND1 gene.

The amplification reactions were carried out in a PCR thermal cycler Dice (Takara, Japan); and it was stained with ethidium bromide and photographed. The corresponding amplicons were checked on 1% agarose gel in a Mupid-2× (Advance, Japan).

### 2.4. DNA sequences analysis

The amplified PCR-products were cut from agarose gels and purified by using GeneiPure™ Quick PCR Purification Kit (Bangalore Genei) according to manufacturer's instructions. The purified PCR products were subjected to automatic DNA sequencing using Rikakan DNA sequencer (Rikakan, Japan). The DNA sequencing was done in both directions by using the forward and the reverse primers for both CO1 and ND1 mitochondrial genes. Nucleotide sequences were first analyzed and edited to check the electropherograms quality by using the software program Finch TV v 1.4.0 (Geospira Inc.©). Using the Basic Local Alignment Search Tool "BLAST" search blast.ncbi.nlm.nih.gov, the obtained DNA sequences were subsequently aligned and compared with verified sequences of *E. granulosus* strains available in the Genbank (Table 1). The phylogenetic tree was constructed by using software program "Mega 4". *Taenia saginata* (NC 009938) was used as an outgroup. Bootstrap analyses were conducted using 1000 replicates. Sequences analyzed in the present study were finally deposited in the Genbank and their accession numbers are listed in Table 1.

## 3. Results

Out of one hundred and forty-five donkeys slaughtered at Beni-Suef zoo for feeding lions, ten animals were found to be infected with hydatid cysts. The infection rate was 6.89%. The hydatid cysts were present only in the livers of the infected animals or in both livers and lungs. Livers showed cysts in all infected cases, while only three of them harbored cysts in their lungs. In the livers, the number of cysts was ten or more in six cases, 8 in two cases, 5 in one case and 4 cysts in the last one. In the lungs, the number of cysts was sharply lower than in livers; as they showed 1 or 2 cysts in each of the infected lungs. The cysts found in the livers and lungs were divided into three types; fertile, sterile and caseous. The fertility of the cysts was determined by the presence of protoscoleces. In the livers, eight cases

**Table 1**

Codes and Genbank accession numbers of specimens and reference sequences used for phylogenetic analysis.

	Codes and accession numbers of specimens		Genbank accession number		
	CO1	ND1	Genotype	CO1	ND1
BSU-1	JN191313	JN191320	G1	M84661	AJ237632.1
BSU-2	JN191314	JN191321	G2	M84662	AJ237633.1
BSU-3	JN191315	JN191322	G3	M84663	AJ237634.1
BSU-4	JN191316	JN191323	G4	M84664	AJ237635.1
BSU-5	JN191317	JN191324	G5	M84665	AJ237636.1
BSU-6	JN191318	JN191325	G6	M84666	AJ237637.1
BSU-7	JN191319	JN191326	G7	M84667	AJ237638.1
			G8	DQ144021	AB235848.1

possessed fertile cysts, one case was sterile and the last one was caseous, while the lungs of three-infected cases possessed fertile cysts.

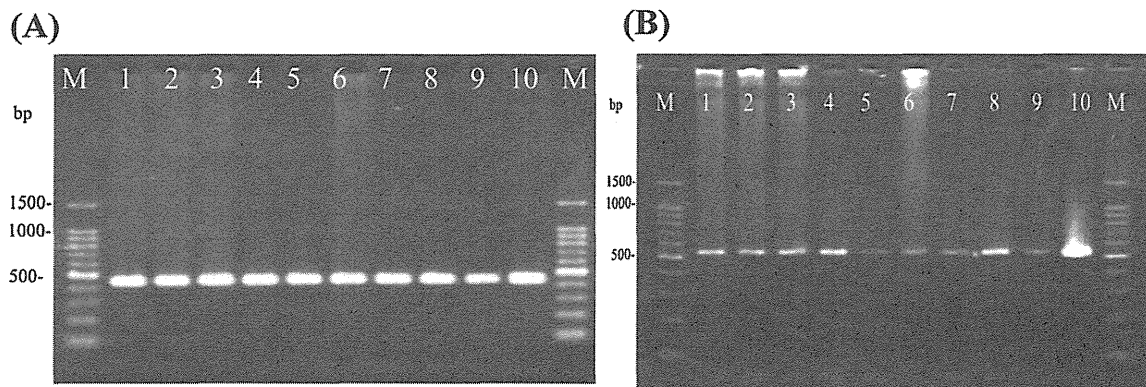
When the purified genomic DNA of the ten isolates of donkeys' echinococcosis was used as template for PCR amplification of both mitochondrial genes, we obtained cytochrome C oxidase 1, and reduced nicotinamide adenine dinucleotide 1, and very intense amplification signals of the expected length (450 bp and 500 bp respectively) from all the analyzed isolates (Fig. 1).

The partial nucleotide sequences (476 bp) of ND1 and CO1 (369 bp) of the ten isolates obtained from donkeys were aligned with the reference sequences of the genotypes; G1–G8 using BLAST search. All the examined ten isolates produced sequences having 100% homology to the reference partial nucleotide sequence of the *E. equinus* (old G4, horse strain "AJ237635.1" and "M84664" respectively). Seven of these donkeys cystic echinococcosis ND1 and CO1 gene sequences with the reference sequences of genotypes; G1–G8 of ND1 and CO1 genes (Table 1) were used in designing the phylogenetic trees (Fig. 2) that confirmed the preliminary results obtained by BLAST search; and they also revealed that all isolates belonged to the *E. equinus*. An alignment of ND1 and CO1 partial nucleotide sequences with *E. equinus* partial nucleotide sequences revealed replacement of G at position 105 with A and replacement of A at position 276 with G respectively.

#### 4. Discussion

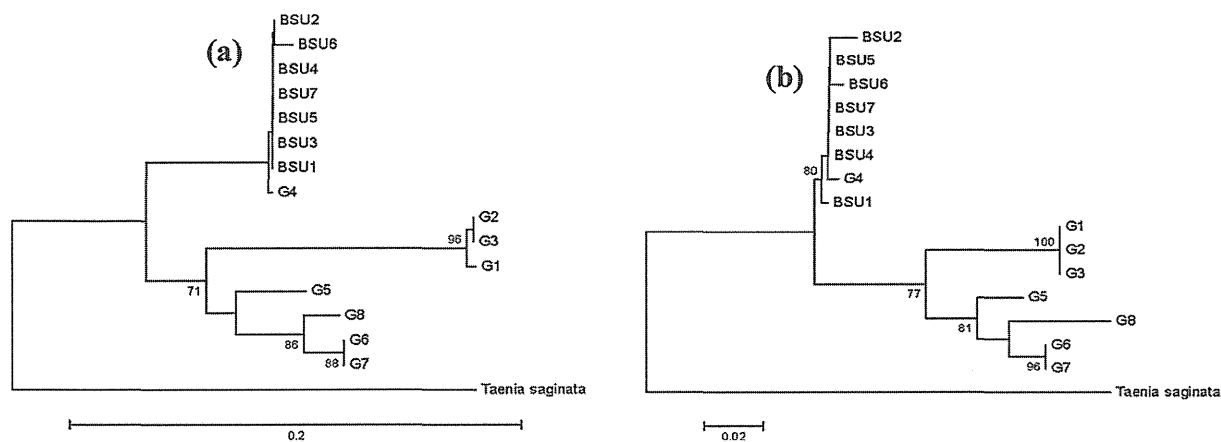
This work presents the first record of *E. equinus* (old G4 or horse strain) as a cause of cystic echinococcosis in donkeys in Egypt. Necropsy of one hundred and forty-five donkeys revealed that ten of them were found to be infected. The majority of infected donkeys (70%) harbored hydatid cysts in their livers only while the minority (30%) harbored hydatid cysts in both livers and lungs. Some authors obtained a similar pattern of hydatid cysts distribution in donkeys in Jordan (Abo-Shehada, 1988; Mukbel et al., 2000). Varcasia et al. (2008) and Acosta-Jamett et al. (2010) also recorded that equines infected with *E. granulosus*, in Italy and north-central Chile, had the majority of hydatid cysts in their livers. On the contrary, Haridy et al. (2008) found that donkeys infected with cystic echinococcosis in Giza, Egypt had hydatid cysts in their livers only, while Blutke et al. (2010) reported that an infected mare with cystic echinococcosis in Germany had hydatid cysts in its lung only. In the present study, most of the livers' hydatid cysts (85%) were fertile while all lungs' hydatid cysts (100%) were fertile. It is reported that equine cystic echinococcosis can be caused by various *Echinococcus* taxa, but only *E. equinus* is known to develop into fertile cysts (Varcasia et al., 2008; Blutke et al., 2010).

It is well established that the use of PCR amplification and sequencing of both mitochondrial genes; cytochrome



**Fig. 1.** (A) PCR results of *E. granulosus* template DNA using mitochondrial cytochrome C oxidase subunit 1 gene. Lanes (1–8), lane (10) denote template DNA isolated from protoscoleces of fertile cysts. Lane (9) shows template DNA isolated from germinal layer of sterile cysts. Lane (M), DNA size marker (100-bp DNA ladder). (B) PCR results of *E. granulosus* template DNA using mitochondrial NADH dehydrogenase 1 gene. Lanes (1–8), lane (10) denote template DNA isolated from protoscoleces of fertile cysts. Lane (9) shows template DNA isolated from germinal layer of sterile cysts. Lane (M), DNA size marker (100-bp DNA ladder).

Please cite this article in press as: Aboelhadid, S.M., et al., Molecular characterization of *Echinococcus granulosus* in Egyptian donkeys. Vet. Parasitol. (2012), <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.11.019>



**Fig. 2.** Genetic relationships between *Echinococcus* isolates from donkeys obtained from Beni-Suef zoo, Egypt and the reference sequences of genotypes G1–G8 as well as *Taenia saginata* as outgroup. The relationships were based on the phylogenetic analysis of concatenated ND1 (a) and CO1 (b) nucleotide sequences of BSU1 to BSU7 using software program "Mega 4".

C oxidase 1 (CO1) and reduced nicotinamide adenine dinucleotide 1 (ND1) is the most common method for genotyping *Echinococcus* isolates (Santivañez et al., 2008; Varcasia et al., 2008; Vural et al., 2008; Sánchez et al., 2010; Beyhan and Umur, 2011; Sharbatkhori et al., 2011). PCR amplification of these two genes in the studied ten isolates produced two bands of the expected length (450 bp and 500 bp respectively). This result is compatible with the results of the previous studies (Beyhan and Umur, 2011; Sharbatkhori et al., 2011).

It is reported that the equids (horses, donkeys and zebras) exclusively act as intermediate hosts for *E. equinus* (Jenkins et al., 2005). For the first time in Egypt, the present study identified that the genotype of the cystic echinococcosis isolates obtained from donkeys in one of the Egyptian governorates as *E. equinus* by partially sequencing of their mitochondrial ND1 (476 bp) and CO1 (369 bp) genes exist. Our results coincided with the findings of Bowles et al. (1992) who found that *E. granulosus* G4 was the causative agent of cystic echinococcosis in horses by sequencing CO1 (366 nucleotides) and ND1 (471 nucleotides) genes. A recent similar study in southern Germany has identified the genotype of hydatid cysts isolates from lungs of mare to be *E. equinus* (Blutke et al., 2010). On the other hand, Varcasia et al. (2008) identified both *E. equinus* (G4 genotype or horse strain) and *E. granulosus* s.s. (old G1, sheep strain) in horses, although cysts of the latter showed aberrant morphological characters and were never fertile.

Donkeys and other equines are infected when grazing pastures are contaminated by feces of dogs and foxes containing the parasite eggs. The donkey and horse act as an intermediate host, in whose livers or lungs fertile hydatid cysts containing protoscoleces are developed (McGorum et al., 1994). This makes the carcasses of these infected equines especially donkeys a major source of infection to the definitive hosts of *E. equinus*, dogs and foxes (Thompson and McManus, 2002). Donkeys infected with cystic echinococcosis may constitute a source of transmitting infection to dogs and foxes in Egypt. This is because of the unhygienic manners of disposal of the carcasses of perished donkeys. This is usually done by throwing

their carcasses near the water canals or cultivable land; the matter that makes them easy to be accessed by stray dogs or foxes. Feeding of donkeys to susceptible carnivores in zoos may also contribute to the transmission of this parasite. Both ways play an important role in the maintenance of *Echinococcus* species life cycle. The hazardous of donkeys' cystic echinococcosis on public health is negligible because it is caused by *E. equinus* which is non pathogenic for human in Egypt. This was reported previously by Thompson (1995), Thompson and McManus (2002) and Romig et al. (2006).

Our genetic characterization of donkeys' echinococcosis strain in Egypt as *E. equinus* will be quite useful in controlling this disease, especially when there is a lack of information about the identity of these parasites, that affect this kind of animals. Finally we recommend post-mortem examination of these donkeys before their introducing as food for wild animals, and we seriously recommend hygienic disposal of the carcasses of these animals and proper condemnation of their affected offal. These precautionary steps will be quite useful in cutting the life cycle of *Echinococcus* species and controlling the disease.

#### Acknowledgment

The authors acknowledge the staff of Beni-Suef zoo for their appreciable help and their permission for the authors to examine the carcass of slaughtered donkeys in the zoo.

#### References

- Abo-Shehadeh, M.N., 1988. Prevalence of hydatidosis in donkeys from central Jordan. *Vet. Parasitol.* 30 (2), 125–130.
- Acosta-Jamett, G., Cleaveland, S., Cunningham, A.A., Bronsvort, B.M., Craig, P.S., 2010. *Echinococcus granulosus* infection in humans and livestock in the Coquimbo region, north-central Chile. *Vet. Parasitol.* 169 (1–2), 102–110.
- Beyhan, Y.E., Umur, S., 2011. Molecular characterization and prevalence of cystic echinococcosis in slaughtered water buffaloes in Turkey. *Vet. Parasitol.* 181 (2–4), 174–179.
- Binhazim, A.A., Harmon, B.G., Roberson, E.L., 1992. Hydatid disease in a horse. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 200 (7), 958–960.

Please cite this article in press as: Aboelhadid, S.M., et al., Molecular characterization of *Echinococcus granulosus* in Egyptian donkeys. *Vet. Parasitol.* (2012), <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.11.019>

- Blutke, A., Hamel, D., Hüttner, M., Gehlen, H., Romig, T., Pfister, K., Hermanns, W., 2010. Cystic echinococcosis due to *Echinococcus equinus* in a horse from southern Germany. *J. Vet. Diagn. Invest.* 22 (3), 458–462.
- Bowles, J., Blair, D., McManus, D.P., 1992. Genetic variants within the genus *Echinococcus* identified by mitochondrial DNA sequencing. *Mol. Biochem. Parasitol.* 54 (2), 165–173.
- Bowles, J., McManus, D.P., 1993. NADH dehydrogenase 1 gene sequences compared for species and strains of the genus *Echinococcus*. *Int. J. Parasitol.* 23 (7), 969–972.
- Bowles, J., Blair, D., McManus, D.P., 1994. Molecular genetic characterization of the cervid strain (northern form) of *Echinococcus granulosus*. *Parasitology* 109 (2), 215–221.
- Bryan, R.T., Schantz, P.M., 1989. Echinococcosis (hydatid disease). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 195 (9), 1214–1217.
- Busi, M., Snaabel, V., Varcasia, A., Garippa, G., Perrone, V., De Liberato, C., D'Amelio, S., 2007 Nov 30. Genetic variation within and between G1 and G3 genotypes of *Echinococcus granulosus* in Italy revealed by multilocus DNA sequencing. *Vet. Parasitol.* 150 (1–2), 75–83.
- Haridy, F.M., Abdel Gawad, E.A., Ibrahim, B.B., Hassan, A.A., El-Sherbi, G.T., El-Shazly, A., Morsy, T., 2008. Zoonotic hydatidosis in donkeys: post mortem examination in the Zoo, Giza, Egypt. *J. Egypt. Soc. Parasitol.* 38 (1), 305–312.
- Hüttner, M., Nakao, M., Wassermann, T., Siefert, L., Boomker, J.D.F., Dinkel, A., Sako, Y., Mackenstedt, U., Romig, T., Ito, A., 2008. Genetic characterization and phylogenetic position of *Echinococcus felidis* Ortlepp, 1937 (Cestoda, Taeniidae) from the African lion. *Int. J. Parasitol.* 38, 861–868.
- Jenkins, D.J., Romig, T., Thompson, R.C., 2005. Emergence/re-emergence of *Echinococcus* spp. – a global update. *Int. J. Parasitol.* 35, 1205–1219.
- Lavikainen, A., Lehtinen, M.J., Meri, T., Hirvelä-Koski, V., Meri, S., 2003. Molecular genetic characterization of the Fennoscandian cervid strain, a new genotypic group (G10) of *Echinococcus granulosus*. *Parasitology* 127 (3), 207–215.
- McGorum, B.C., Railton, D.I., Clarke, C.J., Dixon, P.M., Woodman, M.P., Long, K.J., 1994. Pleuropneumonia associated with pulmonary hydatidosis in a horse. *Eq. Vet. J.* 26 (3), 249–250.
- McManus, D.P., 2002. The molecular epidemiology of *Echinococcus granulosus* and cystic hydatid disease. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 96 (1), S151–S157.
- Mukbel, R.M., Torgerson, P.R., Abo-Shehada, M.N., 2000. Prevalence of hydatidosis among donkeys in northern Jordan. *Vet. Parasitol.* 88 (1–2), 35–42.
- Nakao, M., McManus, D.P., Schantz, P.M., Craig, P.S., Ito, A., 2007. A molecular phylogeny of the genus *Echinococcus* inferred from complete mitochondrial genomes. *Parasitology* 134, 713–722.
- Nakao, M., Yanagida, T., Okamoto, M., Knapp, J., Nkouawa, A., Sako, Y., Ito, A., 2010. State-of-the-art *Echinococcus* and *Taenia*: phylogenetic taxonomy of human-pathogenic tapeworms and its application to molecular diagnosis. *Infect. Genet. Evol.* 10 (4), 444–452.
- Rausch, R.L., 1995. Life cycle patterns and geographic distribution of *Echinococcus* species. In: Thompson, R.C.A., Lymbery, A.J. (Eds.), *Echinococcus and Hydatid Disease*. CAB International, Wallingford, UK, pp. 89–134.
- Romig, T., Dinkel, A., Mackenstedt, U., 2006. The present situation of echinococcosis in Europe. *Parasitol. Int.* 55 (Suppl.), S187–S191.
- Sarma, U., Jogisalu, I., Moks, E., Varcasia, A., Lavikainen, A., Oksanen, A., Simsek, S., Andresiuk, V., Denegri, G., González, L.M., Ferrer, E., Gárate, T., Rinaldi, L., Maravilla, P., 2009. A novel phylogeny for the genus *Echinococcus*, based on nuclear data, challenges relationships based on mitochondrial evidence. *Parasitology* 136, 317–328.
- Sánchez, E., Cáceres, O., Náquira, C., Garcia, D., Patiño, G., Silvia, H., Volotão, A.C., Fernandes, O., 2010. Molecular characterization of *Echinococcus granulosus* from Peru by sequencing of the mitochondrial cytochrome C oxidase subunit 1 gene. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 105 (6), 806–810.
- Santivañez, S.J., Gutierrez, A.M., Rosenzvit, M.C., Muzulin, P.M., Rodriguez, M.L., Vasquez, J.C., Rodriguez, S., Gonzalez, A.E., Gilman, R.H., Garcia, H.H., 2008. Human hydatid disease in Peru is basically restricted to *Echinococcus granulosus* genotype G1. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 79 (1), 89–92.
- Sharbatkhori, M., Fasihi, H.M., Mirhendi, H., Hajjalilo, E., Kia, E.B., 2011. Sequence analysis of *cox1* and *nad1* genes in *Echinococcus granulosus* G3 genotype in camels (*Camelus dromedarius*) from central Iran. *Parasitol. Res.* 108 (3), 521–527.
- Snaabel, V., Altintas, N., D'Amelio, S., Nakao, M., Romig, T., Yolasigmaz, A., Gunes, K., Turk, M., Busi, M., Hüttner, M., Sevcová, D., Ito, A., Altintas, N., Dubinský, P., 2009. Cystic echinococcosis in Turkey: genetic variability and first record of the pig strain (G7) in the country. *Parasitol. Res.* 105 (1), 145–154.
- Taha, H.A., 2012. Genetic variations among *Echinococcus granulosus* isolates in Egypt using RAPD-PCR. *Parasitol. Res.* <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-012-3046-z>.
- Thompson, R.C., Lymbery, A.J., 1990. *Echinococcus*: biology and strain variation. *Int. J. Parasitol.* 20 (4), 457–470.
- Thompson, R.C., 1995. Biology and systematics of *Echinococcus*. In: Thompson, R.C.A., Lymbery, A.J. (Eds.), *Echinococcus and Hydatid Disease*. CAB International, Wallingford, Oxfordshire, UK, pp. 1–50.
- Thompson, R.C., McManus, D.P., 2002. Towards a taxonomic revision of the genus *Echinococcus*. *Trends Parasitol.* 18 (10), 452–457.
- Thompson, R.C., 2008. The taxonomy, phylogeny and transmission of *Echinococcus*. *Exp. Parasitol.* 119, 439–446.
- Varcasia, A., Garippa, G., Pipia, A.P., Scala, A., Brianti, E., Giannetto, S., Battelli, G., Poglajen, G., Micagni, G., 2008. Cystic echinococcosis in equids in Italy. *Parasitol. Res.* 102 (4), 815–818.
- Vural, G., Baca, A.U., Gauci, C.G., Bagci, O., Gicik, Y., Lightowlers, M.W., 2008. Variability in the *Echinococcus granulosus* cytochrome C oxidase 1 mitochondrial gene sequence from livestock in Turkey and a re-appraisal of the G1–3 genotype cluster. *Vet. Parasitol.* 154 (3–4), 347–350.

## 特集

## ペットからの感染症 11

### Key words

Q熱コキシエラ  
*Coxiella burnetii*  
人獣共通感染症  
ペット

## Q 熱

岸本 寿男\* 木田 浩二\*

### 要旨

Q熱は、Q熱コキシエラ (*Coxiella burnetii*) による人獣共通感染症であり、主に反芻動物やペット等の感染動物の胎盤や排泄物からのエアロゾルによる感染で、非定型肺炎や肝炎、不明熱を起こす。欧米では、しばしば集団発生等もあり、非定型病原体の一つとして一般に認知されている。しかしわが国では、感染症発生動向調査で4類全数報告疾患として報告される数は、年に数例~40例程でほとんどが散発例であり、感染源などまだ実態は不明な点が多い。本稿ではQ熱の概説をし、Q熱の疫学、臨床像、診断、治療、予防について述べ、今後の課題を示す。

## I Q熱と病原体

Q熱という病名は、「Query fever = 不明熱」に由来する。1935年オーストラリアの屠畜場従業員の間で流行した原因不明の熱性疾患として発見され、のちにリケッチアの一種 *Coxiella burnetii* による感染症であることが明らかになった<sup>1)~3)</sup>。*C. burnetii* は従来リケッチア科コキシエラ属に分類されていたが、最近の遺伝子学的な解析による新たな分類ではレジオネラ目コキシエラ科コキシエラ属に変更された(表1)。

*C. burnetii* は細胞内でのみ増殖できる偏性細胞内寄生細菌で、人工培地では増殖できない。小桿菌で、その大きさは $0.2\sim 0.4\times 1.0\ \mu\text{m}$ で、一般細菌の球菌の $1/2\sim 1/4$ である。多型性を示し、増殖時の菌の形態には大型菌体 (large cell variant: LCV) と小型菌体 (small cell variant: SCV) とがある。ともに感染性があり、

LCVは浸透圧に対し抵抗性が低いが、SCVは芽胞様構造を示し、熱、乾燥、消毒等に抵抗性のため環境中で長期間安定である。そのため、菌の伝播にダニなどのベクターを必要としない。また、本菌は腸内細菌に似た相変異を起こし、I相菌およびII相菌とよばれている。I相菌は野外株で菌体表面にリポ多糖 (LPS) を保有し、II相菌はI相菌を発育鶏卵や培養細胞を用いて長期継代し弱毒化した株でLPSを保有しない。このI相菌およびII相菌が、血清診断でそれぞれ慢性型と急性型の鑑別に重要となる。

## II 感染様式

本菌は自然界では多くの動物が保菌しており、感染動物の尿、糞、乳汁などに排泄され、環境を汚染する。ヒトへの感染源はおもに家畜や愛玩動物の排泄物であり、これらに汚染された環境中の粉塵やエアロゾルを吸入し感染する。まれにウシやヒツジの未殺菌の乳製品・生

\* 岡山県環境保健センター  
〒701-0298 岡山県岡山市南区内尾 739-1

表 1 主なリケッチア性疾患と関連疾患

病原体		病名	流行地	ベクター
目・科	属・種			
リケッチア目・リケッチア科 (発疹チフス群)  (紅斑熱群)	<i>Rickettsia prowazekii</i>	発疹チフス	世界各地	シラミ
	<i>R. typhi</i>	発疹熱	世界各地	ノミ
	<i>R. japonica</i>	日本紅斑熱	日本	マダニ
	<i>R. rickettsii</i>	ロッキー山紅斑熱	北・中・南米	マダニ
	<i>R. conorii</i>	ポタン熱 (地中海紅斑熱)	地中海沿岸・アフリカ・インド	マダニ
	<i>R. akari</i>	リケッチア痘	北米・アフリカ・ロシア・韓国	小型のダニ
	<i>R. afrikanae, R. helvetica, R. honei etc</i> <i>Orientia tsutsugamushi</i>	African tick bite fever etc つつが虫病	世界各地 日本 (北海道を除く)・アジア各地	マダニ ツツガムシ
リケッチア目・アナプラズマ科	<i>Ehrlichia chaffeensis</i>	エーリキア症	北中南米・欧州・アフリカ・韓国	マダニ
	<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	アナプラズマ症	北中南米・欧州・韓国	マダニ
	<i>Neorickettsia sennetsu</i>	腺熱	西日本	不明
リゾビウム目・バルトネラ科***	<i>Bartonella quintana</i>	塹壕熱	世界各地	シラミ
	<i>B. henselae</i>	ネコひっかき病	世界各地	—
レジオネラ目・コキシエラ科*	<i>Coxiella burnetii</i>	Q熱	世界各地	(マダニ)

\* : 分子生物学的性状から、従来のリケッチア類から分けられている。

\*\* : 人工培地で増殖可能。下線は 4 類感染症

肉などを摂食し感染することもある (図)。感染動物は不顕性感染で、通常は無症状であるが、妊娠しているウシやヒツジが感染すると、胎盤で爆発的に増殖し流産や死産を起こすこともある。このため、菌を大量に含む胎盤や羊水が原因となったヒトの集団感染が諸外国で多く報告されている。また、ペットからの感染例も報告されており、ヨーロッパでネコの出産や流産が集団発生に関連したとの報告や、本邦でも飼育していたネコとの関連が示唆される例がある。ネコでは大部分が不顕性感染と思われる。ただし、実験感染ネコでは発熱、食欲不振、元気消沈などの症状が発現したとの報告もされている。感染はネコの出産に関係しているが、正常分娩のネコからも病原体は分離されている。一方で、ヒトからヒトへの感染は、罹患者からの

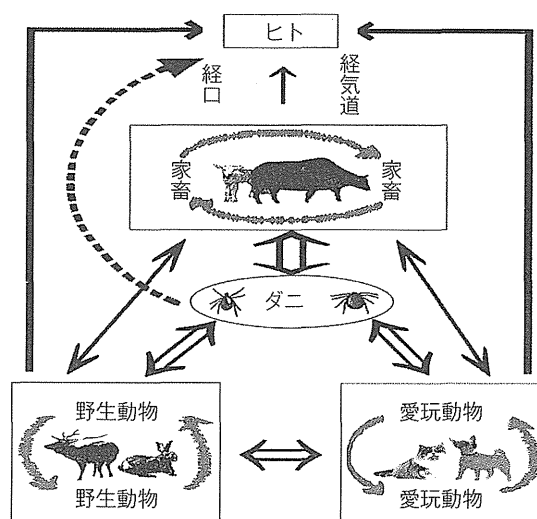


図 環境中の *Coxiella burnetii* の感染様式

輸血等を除いてまれである<sup>4)</sup>。

### III 疫学

#### 1. 動物における疫学

##### a. 外国での疫学

近年、西ドイツで591農場3,200頭のウシを対象に行われた疫学調査によると、ELISA法で13.4%、補体結合反応(CF)で8.4%が陽性を示し、33.3%の農場が陽性であったとしている。とくに繁殖障害の病歴をもつウシは84.4~94.9%と、病歴のないウシが5.3~15.4%の陽性であったのに対し非常に高率で、しかも繁殖障害をもつウシの約80%が*C. burnetii*を排菌していたという<sup>5)</sup>。畜産業において重大な生産病であり、かつ公衆衛生上の問題でもある。

##### b. 日本国内での疫学

わが国においては、1954年に46県のウシ983頭中11頭にCF抗体が認められたとの報告がみられる。以後はほとんど積極的な疫学調査はされていなかったが、1990年代以降に、家畜、野生動物、愛玩動物の抗体調査が行われ、高率に抗体を保有することが明らかになってきた<sup>6)~8)</sup>。ただし、これらの報告の抗体陽性基準が間接蛍光抗体法(IF法)で16倍と低く、抗体保有が過去の感染を意味するのか、感染状態を意味するのか、または非特異的な抗体を検出しているのか不明な点が残されていた。

筆者らは、現在のヒトへのリスクの実態解明のため、家畜や愛玩動物からの*C. burnetii*検査を含めた疫学調査を数年前から行っている。家畜については、検体提供について協力が得られた北海道の5牧場で飼育されているウシ431頭を対象にしIF法と一部でPCRを施行した。全体としては10.5%が*C. burnetii*抗体陽性と判定された。しかしながら、1つの牧場においては、陽性が28.4%と他の牧場に比べて高い値を示した。当該牧場を除いた4牧場における陽

性の割合は4.4%であった。ウシ全血から抽出したDNA計322検体についてreal-time PCR法にて遺伝子検出を実施したが、全検体陰性であった。抗体保有率が高かった牧場のウシではDNAについては検討できなかったため、採材時点での感染の有無は不明であるが、過去に流行等があった可能性は否定できず、地域によっては一定の感染リスクは存在する可能性が示唆された。さらに家畜の調査として2009~2012年に食肉処理された全国のウシ525頭から*C. burnetii*遺伝子は検出されず、日高地方の放牧ウマ87頭からは*C. burnetii*遺伝子は検出されなかった。

ペットでは、血液サンプルからのDNA検出と抗体保有率で調査した。イヌでは28都道府県で採取された1,098頭の血清1,098検体と、うち25都道府県の血液からの抽出DNAサンプル986検体を用いた。また、ネコでは30都道府県で採取された582匹の血清サンプルについて抗体価測定を行った。イヌでは*C. burnetii* DNAが検出された検体はなかった。またIF法で64倍を抗体陽性基準とすると、イヌでは2.1%の抗体保有率を示し、ネコでは6.2%の抗体保有率を示した。しかし全国のネコ1,762匹の全血からは*C. burnetii*遺伝子は検出されなかった。今回の調査ではいずれもこれまでの報告より低い抗体保有率を示したことから、イヌ、ネコにおけるQ熱の関与は示唆されるものの、以前の報告ほど高率ではなく、健康なペットからヒトへの感染リスクも現状ではあまり高くないことが示された。また宿主と目されるマダニについて岡山県で採取された802匹からは*C. burnetii*遺伝子は検出されなかった。以上から、国内における*C. burnetii*感染の環境リスクは高くないものと考えられた。

#### 2. ヒトにおける疫学

##### a. 外国での疫学

*C. burnetii*は欧米においては市中肺炎の数%程度を占める一般的な起炎菌としてよく認識さ



れているが、本疾患の国内における実態や病像に関しては疫学的なデータが不足している。

世界的には多くの報告がみられる。オーストラリアでは年間に数百例、英国では11年間に1,656例、米国では28年間に1,164例、スイスでは年間30~90例、ドイツでは年間150~200例で100万人当たり0.1~3.1例、フランスでは人口10万人当たり0.58例のQ熱患者が発生しているとの報告がある。

またQ熱の集団発生は初発の食肉処理場のほか羊毛処理場、乳肉加工場などで報告されている。ヒツジに由来する集団発生は1983年にスイスで報告があり、秋に山で放牧中のヒツジを里に移動した3週後に、近隣の住民415人に発生がみられた例がある<sup>9)</sup>。また最近では、2009年にオランダでヤギなどを感染源とするQ熱の集団発生があり、2,300人が感染し少なくとも6人が死亡している。オランダ政府は感染農場のヤギの殺処分などの対策をした。オランダの乳用ヤギは23万匹で、600カ所の牧場で飼育されているが、チーズの需要の増大に伴いヤギの数が4倍に増え、飼育密度が高くなったことで感染が広がり、感染ヤギの流産中の*C. burnetii*が風で飛ばされ、周辺の市町村で患者が多く発生したとされている。

ペットでは、ネコに由来する集団発生が多く報告されており、カナダのネコ飼育者が汚染された衣類を介して職場で16人の患者発生につながった例や、1匹のネコの流産が原因で付近の住民33人に集団発生をみた例、また飼育中のネコが原因でパーティに出席した近親者14人の発生が報告されている<sup>10)~12)</sup>。

#### b. 日本での疫学

わが国では、1952年WHOの依頼を受けて畜産関連に従事する健常者を対象に調査がされ、IF法による抗体調査により、901人の食肉解体処理従事者のうち22人(2.4%)が陽性であったと報告している。内訳は、獣医師275人中62人(22.5%)、食肉処理業者107人中12人

(12.2%)、呼吸器疾患患者184人中28人(15.2%)であった。しかし、患者や病原体は確認されず、その後しばらくQ熱は日本に存在しないと考えられていた。カナダでヒツジ胎仔を扱う研究に従事し、1988年帰国後発症した留学生の報告がわが国の最初の症例である<sup>13)</sup>。その後の国内で感染した患者では、主にペットが感染源の可能性があると注目されたが、特定が困難な症例が多い。Htweらは、1978~1991年に国内で集積した626人の血清で、IF法で*C. burnetii*に対する抗体保有率を調べているが、動物と接する機会の多い獣医師の血清については、275人中22.5%が陽性であり、健常者60人での1.6%に比べて抗体陽性者が多かったと報告している<sup>7)</sup>。

一方筆者らは、2007年に発熱等の症状のない健常者(動物病院従事者)の保存血清163検体、男性68検体、女性95検体、年齢10~70代について、スクリーニングとしてELISA法にてQ熱IgG抗体を測定し、判定保留と陽性であったものについてIF法で測定したところ、すべて陰性であった。抗体判定の基準が異なるものの、現在のリスクとしては以前よりも低いものと考えられる<sup>14)</sup>。

成人の市中肺炎における*C. burnetii*の関与については、市中肺炎の2~6%がQ熱とする疫学調査の高橋らの報告がみられている<sup>15)</sup>。一方筆者らのプライマリケア医における市中肺炎の調査では、168例中3例(1.8%)がIF法で血清学的に陽性であったが、明らかにWestern blottingで特異抗体と思われたものは1例(0.6%)のみであった。このようにQ熱は、日本における存在が明らかであるが、多くは見逃されている可能性が高い。一方で感染源が特定されていない症例が多いことや、まだ多くの不明な点が残されている。時に輸入例もあり、筆者らは、オーストラリアの農場視察に行った畜産関係者3人が同時に感染した急性Q熱の輸入症例や国内発症の肝炎型を経験している<sup>16)</sup>。

表2 Q熱の確定診断（届出基準）

検査方法	検査材料
分離・同定による病原体の検出 PCR法による病原体の遺伝子の検出	血液
間接蛍光抗体法による抗体の検出（単一血清でIgM抗体64倍以上もしくはIgG抗体256倍以上、またはペア血清による抗体陽転もしくは抗体価の有意の上昇）	血清

今後も症例の蓄積と感染源の調査が望まれる。

## IV 感染症法による取り扱い

Q熱は、1999年施行の感染症法で第4類全数届出感染症に指定され、2003年の改正後は新4類として規定された疾患であり、本症を診断した医師は、ただちに最寄りの保健所に届け出ることになっている。1999～2011年まで毎年それぞれ数人から40人程度が報告されている。患者（確定例）については、2003年の届出基準の見直しによって以下のように改訂されている。「医師は、臨床的特徴を有する者を診察した結果、症状や所見からQ熱が疑われ、かつ、次の表の左欄に掲げる検査方法により、Q熱患者と診断した場合には、法第12条第1項の規定による届出を直ちに行わなければならない。この場合において、検査材料は、同欄に掲げる検査方法の区分ごとに、それぞれ同表の右欄に定めるもののいずれかをを用いること。」この検査法と届出基準の見直しの結果、以前は低抗体価（IgM16～32倍、IgG16～128倍）の症例が多く届けられていたものが、確定例から除外されたことによって、報告数の減少につながっているものと考えられる。

## V 病態、症状

病態は大きく急性型と慢性型に分けられる。急性型の潜伏期は一般的には2～3週間で、感染量が多いと短くなる。症状は発熱、頭痛、筋肉痛、全身倦怠感、呼吸器症状などで、インフ

ルエンザ様である。主症状が肺炎、肝炎、あるいは発熱主体等で、「肺炎型」「肝炎型」「不明熱型」の3つのパターンがみられ、その臨床像は多彩であり、不顕性感染も多く、ほとんど特徴的なものはないといえる。症状として皮疹がみられることはまれである。検査所見では、CRP、肝酵素（AST、ALT）の上昇、血小板減少、貧血などがみられる。また、急性型の2～10%は心内膜炎を主徴とする慢性型に移行するといわれており、適切な治療をしないと難治性となる。海外では、急性Q熱患者が回復後しばらくして倦怠感、不眠、関節痛などを訴え、数カ月～数年もの間持続し、急性Q熱後症候群と診断される症例が報告されているが、まだ実態は不明な点が多い。

## VI 診断

Q熱の診断法には病原体検出法と血清抗体測定法がある（表2）。

### 1. 病原体検出法

病原体検出法には、分離培養法と抗原検出法、遺伝子検出法がある。なお、病原体検査マニュアル（国立感染症研究所・地方衛生研究所編）に現時点で推奨されるQ熱検査の詳細を記載しているので参照されたい。国立感染症研究所のHPでも閲覧可能である。

#### a. 分離培養法

急性期のヒト材料（血液、血清、咽頭スワブ等）から分離をすることがもっとも信頼性が高いが、実験小動物や発育鶏卵、培養細胞などを用いるため、煩雑で経験を要する。動物からの

材料では血液、血清、乳、脾臓、胎児、胎盤、腔拭い液などが用いられる。発育鶏卵を用いる場合は、卵黄嚢内接種によって菌を増殖させる。細胞培養ではBGM (buffalo green monkey: アフリカミドリザル腎臓) 細胞などを用いる。これらの操作はいずれもP3レベルの感染実験が可能な設備を要するため施行可能な施設は限られる。

#### b. 抗原検出法

菌を含むと思われる臨床検体を直接 Gimenez 染色やギムザ染色、あるいは免疫蛍光抗体法で染色することは可能ではあるが、通常の診断としては不確実であり実際にはまず行われぬ。上記の分離培養後の同定としての使用にほぼ限定される。

#### c. 遺伝子検出法

PCR法による特異遺伝子の検出がもっとも感度と特異性に優れており有用な方法である。現在はもっとも感度・特異性に優れた *com1* 遺伝子が主に利用されている。筆者らは、主に全血のバフィーコート分画から検出を行っており、急性極期には血清中からの検出も可能である<sup>17)</sup>。

## 2. 血清抗体測定法

#### a. 間接蛍光抗体法 (IF法)

血清抗体価測定は標準法としてはIF法が推奨される。急性型では、まずII相菌に対する抗体が上昇し、その後I相菌に対する抗体が上昇する。一般にI相菌よりII相菌に対する抗体価が高くなるため、急性型の確定診断にはII相菌を主に用い、場合によっては双方を用いて、原則的には急性期と回復期のペア血清でのIgG抗体価の4倍上昇を認めることやIgMの高値(64倍以上)やIgG高値(256倍)の証明によって行われる<sup>17)</sup>。抗体価は最初の感染から数カ月～数年持続するため、単独血清での判定は難しいことが多い。またペア血清での有意な上昇がみられるまでかなり長期間を要する例もあり、Q熱を強く疑う例では経過を追って抗体を測定することが望ましい<sup>17)18)</sup>。一方、慢性型の

確定診断では、I相菌およびII相菌に対する高い抗体価がみられ、一般にI相菌の抗体価がII相菌の抗体価より高いことから判定される。また、急性Q熱後症候群の患者では全般的に抗体価が低めであるといわれている。

## VII 治療と予防

急性Q熱の多くは2週間程度で自然治癒し、死亡例はまれであるが、抗菌薬による治療を発症から3日以内に行うと有熱期間の短縮や慢性化の予防に効果ある。急性Q熱の第1選択薬はテトラサイクリン系抗菌薬(ミノサイクリン・ドキシサイクリン)で、第2選択薬としてマクロライド系が用いられるが、重症例では無効の報告もある。β-ラクタム薬はほぼ無効である。他にはリファンピシン、キノロン薬も有効とされる。テトラサイクリンやキノロン薬では耐性株の報告がみられている。菌の陰性化を期待するためには解熱後も2週間は投与を続ける必要がある。仮に再燃したら、すぐに投薬を再開することが重要である。

これまで *C. burnetii* に対する最小発育阻止濃度(MIC)の成績は乏しかったが、Rolainらは、ドキシサイクリンとニューキノロン薬(モキシフロキサシン、オフロキサシン、ペフロキサシン)の臨床分離 *C. burnetii* 株に対するMICを比較して、ほぼ同等の抗菌力であったとし、また彼らはテリスロマイシンの抗菌力はエリスロマイシンより優れていると報告している<sup>19)</sup>。Gikasらも、同じくドキシサイクリンとニューキノロン薬(オフロキサシン、ペフロキサシン、トラバフロキサシン)、マクロライド薬(クラリスロマイシン)の *C. burnetii* に対するMICを比較しているが、いずれも同等の抗菌力を示すと報告した。さらにGikasらは、急性Q熱症例に対して抗菌薬治療を行い、解熱するまでの期間を検討したプロスペクティブな研究成績を報告しているが、ドキシサイクリン、エリ

スロマイシン, クラリスロマイシン, ロキシスロマイシン,  $\beta$ -ラクタム薬で比較した結果,  $\beta$ -ラクタム薬以外はほぼ同等の効果を示している<sup>20)</sup>.

一方, 慢性 Q 熱は基本的に抗菌薬抵抗性で, テトラサイクリンとキノロン薬, リファンピシン, クロロキンなどの 2 剤併用で 3 年以上の継続が推奨されている. しかし慢性 Q 熱の場合は予後が悪く, 数年にわたる投薬が行われても十分に効果が得られないこともある. 弁置換など外科的対応が必要となる場合もまれではない. 急性 Q 熱の発症の際に適切な治療を行い, 慢性 Q 熱に移行させないことが重要である.

予防については, 海外での感染事例が動物の出産時に多く発生していることから, 出産時の動物, 後産などの取り扱いに注意し, 流産胎盤などの焼却, 汚染環境のクレゾール石けん液や 5% 過酸化水素水での消毒を行う. オーストラリアでは, 屠畜場職員等のハイリスクの従事者には希望によりワクチンが接種され, 効果もあるとされているが, わが国をはじめその他の国では認可されておらず, 接種できない<sup>21)</sup>.

## おわりに

今後の課題として, ① 実態がまだ十分把握されていない. ② 感染源と感染経路が不明な例が多い. ③ 簡便で客観性と再現性の高い診断システムが確立されていない. 今後これらを検討し解明していく必要がある.

## 文献

- Burnet FM, Freeman M : Experimental studies of the virus of Q-fever. *Med J Aust* 1937 ; 2 : 299-305
- Cox HR : Studies of a filter-passing infections agent isolated from ticks. V. Further attempts to cultivate in cell-free media. *Pub Hlth Rep* 1939 ; 54 : 1822-1827
- Derrick EH : Q-fever, new fever entity : clinical features, diagnosis and laboratory investigations. *Med J Aust* 1937 ; 2 : 281-298
- Maurine M, Raoult D : Q fever. *Clin Microbiol Rev* 1999 ; 12 : 518-553
- Gouverneur K et al : Berl Muench Tieraeruztl Wochenschr 1984 ; 49 : 437-441
- Yoshie K et al : Serological evidence that the Q fever agent (*Coxiella burnetii*) has spread widely among dairy cattle of Japan. *Microbiol Immunol* 1991 ; 35 : 577-581
- Htwe KK et al : Seroepidemiology of *Coxiella burnetii* in domestic and companion animals in Japan. *Vet Rec* 1992 ; 131 : 490
- Morita C et al : Seroepidemiological survey of *Coxiella burnetii* in domestic cats in Japan. *Microbiol Immunol* 1994 ; 38 : 1001-1003
- Dupuis G et al : An important outbreak of human Q fever. *Int J Epidemiol* 1987 ; 16 : 282-287
- Kosatsky T : Household outbreak of Q-fever pneumonia related to a parturient cat. *Lancet* 1984 ; 2 : 1447-1449
- Marrie T et al : Exposure to parturient cat ; a risk factor for acquisition of Q fever in Maritime Canada. *J Infect Dis* 1988 ; 158 : 101-108
- Laugley JM et al : Poker players' pneumonia. An urban outbreak of Q fever following exposure to a parturient cat. *N Engl J Med* 1988 ; 319 : 354-356
- Oda H, Yoshie K : Isolation of a *Coxiella burnetii* strain that has low virulence for mice from a patient with acute Q fever. *Microbiol Immunol* 1989 ; 33 : 969-973
- 厚生労働科学研究費補助金新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業 ワンヘルス理念に基づく動物由来感染症制御に関する研究報告書 2010~2011 Q 熱コクシエラの生態系における感染リスク評価に関する研究 (研究代表者山田章雄, 分担研究者岸本壽男)
- Takahashi H et al : Prevalence of community-acquired respiratory tract infections associated with Q fever in Japan. *Diagnostic Microbiol Infect Dis* 2004 ; 48 : 247-252
- 河本知秀ほか : 海外の屠畜場および農場を視察後同時発症した Q 熱患者 3 症例. *日本感染症学雑誌* 2003 ; 76 : 1030-1034
- 国立感染症研究所, 地方衛生研究所全国協議会 (編) : リケッチア感染症診断マニュアル・病原体検査マニュアル, 2001
- Setiyono A et al : New criteria for immunofluorescence assay for Q fever diagnosis in Japan. *J Clin Microbiol* 2005 ; 43 : 5555-5559

- 19) Rolain JM, Maurin M, Raoult D : Bacteriostatic and bactericidal activities of moxifloxacin against *Coxiella burnetii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2001 ; 45 : 301-302
- 20) Gikas A et al : In vitro susceptibility of *Coxiella burnetii* to linezolid in comparison with its susceptibilities to quinolones, doxycycline, and clarithromycin. *Antimicrob Agents Chemother* 2001 ; 45 : 3276-3278
- 21) 岸本寿男, 安藤秀二, 小川基彦 : Q 熱の現状と課題, SADI 組織編集委員会 (編), 柳原保武 (監修) ; ダニと新興再興感染症, 全国農村教育協会, 2007 : 205-217

⊗ ⊗ ⊗

