

計畫編號：DOH99-DC-2014

行政院衛生署疾病管制局 99 年度科技研究發展計畫

本土 Q 熱(人畜共通傳染病)感染源之研究調查

研究報告

執行機構：行政院衛生署疾病管制局

計畫主持人：林柏杉

協同主持人：黃智雄 舒佩芸 洪敏南 林建州

研究人員：王詠中 郭莉莉 吳宗穆

執行期間：2010 年 1 月 1 日至 2010 年 12 月 31 日

本研究報告僅供參考，不代表本署意見，如對外研究成果應事先徵求本署同意

目 錄	頁碼
中文摘要	(3)
英文摘要	(4)
壹、前言	(5)
貳、材料與方法	(8)
參、結果	(10)
肆、討論	(12)
伍、結論與建議	(15)
陸、計畫重要研究成果及具體建議	(17)
柒、參考文獻	(18)
捌、圖表	(20)

共 (21) 頁

中文摘要

本研究藉由採集南台灣各類動物檢體，包括牛、羊、貓、狗之產道分泌物及牛羊乳汁，經由 PCR 檢驗偵測 Q 熱菌 (*Coxiella burnetii*)，試圖找出南台灣人類 Q 熱病例之可能感染源。在採得之 1032 個動物產道分泌物檢體中，包含 259 個牛陰道拭子，其中 39 個驗出陽性 (15.1%)；218 個羊陰道拭子，其中 88 個驗出陽性 (40.4%)；在犬、貓部分，所有犬隻陰道拭子 368 隻皆為陰性，而在 187 隻貓陰道拭子中僅有 2 隻陽性 (1.1%)。另外採得牛場總乳 48 場，有 18 場驗出陽性 (37.5%)；羊場總乳 55 場，有 2 場驗出陽性 (3.6%)。

依據本研究結果顯示 Q 熱菌普遍存在於所調查的牛羊畜牧場，特別是羊場，此菌不但可藉由產道分泌物排出，亦可藉由牛、羊之乳汁排出；另雖然僅 2 隻貓的產道分泌物被檢出陽性，但這依然顯示在南台灣除了反芻動物類動物 (牛、羊) 外，家貓亦可能扮演 Q 熱菌帶原者，有造成人類感染之潛在可能。

關鍵詞：Q fever、*Coxiella burnetii*、牛、羊、狗、貓、乳汁、產道分泌物、聚合酶鏈鎖反應。

ABSTRACT

The study was supposed to find the possible reservoir of human Q-fever infection in South Taiwan population utilizing the PCR screening technique for the genital discharge from different animals, canine, feline, cow, goat and the milk from cow/goat also.

Among the 1032 vaginal swabs we screened, 39 were Q-fever positive (QFP) with positive rate (PR) 15.1% from the 259 cows, and 88 were QFP with PR 40.4% in 218 goats. However, only 2 were QFP with PR 1.1% from the vaginal swabs in feline group versus none QFP in canine group. Additionally, 18 QFP with PR 37.5% from 48 bulk tank cow milk showed a different profile from those 55 goat milk, 2 QFP with PR 3.6%.

The output showed the Q-fever pathogen, *Coxiella burnetii*, was ubiquitous in the surveyed ruminant farms, especially in goat farm. The pathogen could not be only excreted via the genital discharge but also could be detected from the milk of cow/goat. Furthermore, pet cats were deduced as the another reservoir for human QF infection even only 2 QFP from feline group were found in comparison with the higher PR profile of other reservoirs in this study, cows and goats.

Key words : Q fever, *Coxiella burnetii*, cow, goat, dog, cat, milk, genital discharge, PCR

壹、前言

Q熱最早在澳洲昆士蘭由 Derrick 醫師發現並描述此病，它是由 *Coxiella burnetii* 菌造成的一種遍佈全世界之人畜共通傳染病。*Coxiella burnetii* 感染後臨床症狀具多樣性而無特異性，所以不易診斷，有些患者可能有肺炎或肝炎等症狀；然而許多感染者不呈現臨床症狀或症狀不明顯。少數 Q 熱病患會發展成心內膜炎病徵為主之慢性型 Q 熱，其預後不佳常導致死亡。

人的 Q 熱感染常與動物接觸有關，*Coxiella burnetii* 最常見的保菌動物是農場動物，包括牛、山羊、綿羊¹；而貓、兔子、狗等寵物則是城市地區病例之潛在感染源²；當這些哺乳類動物遭受感染，病原菌會隨尿液、糞便及乳汁等排出³⁻⁵，且對乾燥環境具有抵抗力；而在一些受感染的懷孕動物，其胎盤及生產過程分娩物質常含有高濃度的病原菌⁶。人類因食入受污染的食物，特別是未經消毒之生乳，或吸入含致病菌之塵土微粒而造成感染。很多報告指出人類的 Q 熱感染與工作上必須經常與動物接觸有關，例如動物牧場管理者、獸醫師、屠宰場工作人員等⁷，所以 Q 熱有時被視為一種職業病。有研究指出在羊的生產季節，發生了季風異常的增加，造成更利於 Q 熱傳播的環境，使當年的 Q 熱發生病例大幅增加⁸。

荷蘭在 2007 年其西南方 Herpen 這個城鎮爆發了 1 百多例 Q 熱病例，隔年在鄰近 Nijmegen 城市區域，病例更進一步大幅成長，直至 2008 年 8 月，共累積超過 800 例 Q 熱病例，是有史以來全世界最大規模的 Q 熱社區感染⁹。經流行病學調查，該次的群聚感染可能與當地高密度的山羊飼場有關，並極可能為山羊糞肥的運送造成此次的大爆發。另有一些研究也顯示人類的 Q 熱病例與動物（牛、山羊）的 Q 熱陽性飼養場有地緣性相關¹⁰。

台灣在 1993 年出現第一個 Q 熱病例報告¹¹，此後開始注意該疾病的通報及檢測，而依據疾病管制局的統計資料，近五年(2004~2008)的通報病例數分別為 1349、1590、1596、1369、1740 例，確定病例數分別 98、117、159、147、92 例，主要集中在高雄縣市、屏東縣、台南縣等南部縣市。這些確定病例分布密集的縣市剛好也都是台灣畜牧業較發達的縣市或與之鄰近的高雄市。為了決定這些動物畜牧場是否為感染 Q 熱的重要危險因子，我們在 2007 年度 Q 熱的研究計劃中，針對高高屏地區的特定職業族群如獸醫、畜牧業、屠宰業等工作人員共 235 人和相關動物如牛、羊等作局部的血清流行病學調查。我們發現在工作上經常與動物接觸的特定職業族群 Q 熱抗體陽性率高達 24%（對照組一般族群陽性率只有 3%）¹²；此外在相關畜養動物方面，羊的 Q 熱抗體陽性率更高達 44%，牛群部分為 20%，相對於豬、狗與貓則幾無抗體¹²。根據這些資料可初步推測動物飼養場可能與人

類 Q 熱感染具有相關性，為了擬訂更有效的防疫措施與衛教宣導，進一步分析這些動物感染 Q 熱後排菌的方式，以做為相關工作或接觸人員或一般民眾採取必要的防護措施，則有其必要性及迫切性。

貳、材料與方法

一、動物檢體採集

- (一) 檢體採集來源：採集之區域包括南台灣所在之高雄市、高雄縣、屏東縣；採集的檢體種類包括牛、羊之產道分泌物、牛乳及羊乳、狗及貓之產道分泌物。
- (二) 檢體採集：分兩部分進行，牛羊檢體採集透過動物防疫機關協助，至選定之畜牧場採集牛、羊之乳汁及產道分泌物。另一部分為狗貓產道分泌物之採集，則透過動物醫院、診所協助採集，上述採集期間如有遇動物流產物質亦加以收集。乳汁採集以 50ml 離心管收集，每管收集 10ml~30ml，每場可區分不同動物者，各別區分收集；不可區分者，採集總乳。產道分泌物採集對象以懷孕動物為優先，以無菌棉花棒採集，採集完置入 1~3ml PBS 或 RPMI 1640 保存液中。流產物質則採集液體及部分胎盤組織，採集量視現場狀況而定。
- (三) 檢體採集數量：預定採牛羊乳汁以場計，計 100 場乳汁；牛羊產道分泌物 50~100 場，每場 5~10 隻，計 500 隻；狗貓產道分泌物 300 隻。

二、檢體 Q 熱病原菌檢驗

許多研究顯示以聚合酶鏈鎖反應的方法可用來檢測隨動物糞便、乳汁、產道分泌物及流產胎兒排出之 Q 熱致病菌¹³⁻¹⁵，本研究採集之檢體以聚合酶鏈鎖反應的方法檢測，採用的方法屬於 single tube nest PCR¹⁶，其靈敏度可達 10 數個病原顆粒；反應引子及條件如下：

(一) IS1111 引子(primers)

QF9: 5'- TAT GTA TCC ACC GTA GCC AGTC-3'

QF10: 5'-CCC AAC AAC ACC TCC TTA TTC-3'

QF11: 5'-GAG CGA ACC ATT GGT ATC G-3'

QF12: 5'-CTT TAA CAG CGC TTG AAC GT-3'

(二) 聚合酶鏈鎖反應條件 (PCR conditions)

- 1.1. 首先以 94 °C 解離 30 秒，依序從 66 °C 至 62 °C 每降 1 °C 進行黏合 30 秒及 72 °C 增幅 60 秒，之後再以 61 °C 進行 10 個循環的黏合及增幅反應。
- 1.2. 在前述反應完成後，以 94 °C 解離 30 秒，54 °C 黏合 30 秒及 72 °C 增幅 60 秒的條件進行 45 個循環的反應。

參、結果

一、檢體採集

檢體採集於規畫連絡協調完成後，於 4 月份起陸續進行檢體採集，共計採得 1023 隻產道分泌物檢體及 103 場總乳（含牛乳 48 場、羊乳 55 場）；產道分泌物檢體包括牛陰道拭子 259 支，羊陰道拭子 218 支，分別來自於 52 場養牛場及 44 場養羊場（見附表一）；在寵物方面則採得狗陰道拭子 368 支，貓陰道拭子 187 支，檢集處所分別為一處動物收容所及 6 所動物醫院（見附表二）；動物收容所之犬隻（採檢數=100），來源為高雄縣境內捕獲暫時收容之流浪犬，而動物醫院動物（犬=268，貓=187），其主要來源為高雄市民飼養而至動物醫院就診之動物，少數為外縣市市民飼養就診者。

二、檢體檢驗

採得之檢體經前述 PCR 方法檢測 *Coxiella burnetii* 病原菌存在之情形，其結果如下：

在經濟動物(牛、羊)方面，於 259 個牛陰道拭子中，檢出 39 個陽性(15.1%)，高雄縣與屏東縣分別檢出 20 個(15.4%)個及 19 個(14.7%)；在 218 個羊陰道拭子中，檢出 88 個陽性(40.4%)，高雄縣與屏東縣分別檢出 59 個(51.3%)個及 29 個(28.2%)，見附表三。若以畜牧場來看，52

場牛陰道拭子中，有 15 場驗得陽性反應(場盛行率為 28.8%)，高雄縣與屏東縣之陽性場分別有 8 場(30.8%)及 7 場(26.9%)，在 44 場羊陰道拭子中，有 26 場驗得陽性反應(場盛行率為 59.1%)，高雄縣與屏東縣之陽性場分別有 18 場(78.3%)及 8 場(38.1%)，見附表三。

另在採得之 48 場牛乳總乳中，有 18 場驗出陽性(盛行率為 37.5%)，高雄縣與屏東縣之陽性場分別有 13 場(52.0%)及 5 場(21.7%)；在 55 場羊乳總乳中，只有 2 場驗出陽性(盛行率為 3.6%)，高雄縣與屏東縣各有 1 場陽性場(盛行率分別為 3.4%及 3.8%)，見附表四。

在寵物(狗、貓)方面，在採得之 368 隻狗陰道拭子，全部驗得陰性反應；而在採得 187 隻貓陰道拭子中，檢出 2 隻陽性反應(1.1%)，見附表五。

肆、討論

在 2007 年，我們曾以 IFA 檢測動物血清的方法調查南台灣動物飼養場之牛、羊及狗、貓感染 Q 熱的情形，檢測結果顯示其盛行率分別為 44%，20%，0.6%，0%¹²，其趨勢與本研究產道分泌物 PCR 的檢測結果是一致的(分別為 40%，15%，0%，1%)；先前以血清學方法研究調查只能證實牛羊曾有 Q 熱菌的感染而已，而本研究結果進一步證明 Q 熱菌確實存在於南台灣牛羊飼養場。

依據檢驗結果顯示 *Coxiella burnetii* 菌存在於牛羊的產道分泌物的比例不低，分別有 15.1% 的牛隻及 40.4% 的羊隻驗出陽性；如果以畜牧場來看，分別有 28.8% 的牛場及 59.1% 的羊場感染 Q 熱菌，高雄縣甚至有高達 78.3% 的羊場感染率；此結果顯示 Q 熱菌可能已普遍存在於南台灣之牛羊飼養場。

另外在採得 48 場牛場總乳及 55 場羊場總乳中，皆有驗出陽性反應，分別為 37.5% 及 3.6% (表四)，代表此菌不但可藉由產道分泌物排出，亦可藉由牛、羊之乳汁排出。而我們觀察到羊場總乳檢體之陽性率只有 3.6%，有點令人出乎意料之低，這可能是採樣方法不同及生物性因素造成：乳汁的採樣受限於牛羊飼養現場作業模式，無法如產道分泌物採樣方式依個別動物逐一採檢，乳汁檢驗是以採集混合乳為之，且每個場的乳汁收集方式未必完全相同，這些混合乳來自的動物數目也不一樣，所以無法與產道分

泌物檢驗結果作比較；至於生物性差異的解釋，則可能是因為羊隻感染 Q 熱後主要的排菌方式為糞便及產道分泌物，從乳汁排放的情形通常較少^{4, 17}，這點與陽性牛隻大部分可從乳汁排放菌體的狀況完全不同¹⁷，不過上述羊隻乳汁的研究數據，研究對象是綿羊，山羊似乎較缺乏支持此一現象之證據，而本研究所採集之羊乳汁皆來自於山羊，本研究觀察到羊場乳汁陽性率偏低的情形，或許需要採集更多檢體或採集動物個體乳汁取代總乳採集方式，並有更多本地的類似研究調查才能回答此一現象之真偽。

Q 熱在寵物部分（犬、貓），除了一些文獻報告描述動物間或動物與人之間的零星感染外¹⁸⁻²⁰，大量群聚感染的情形則較為少見，在本研究中，所有犬隻陰道拭子確實也皆為陰性，無驗出 Q 熱菌之存在；但值得注意的是仍然有 2 隻貓的產道分泌物被檢出陽性（表五），回溯其動物就診主訴，分別為一般健康檢查的家貓，另一隻則因胃炎就診，顯示在南台灣除了反芻動物類動物（牛、羊）外，無流死產症狀母貓亦可能是 Q 熱菌帶原者，有造成人類感染之潛在可能，這一點值得特別注意。

Q 熱菌在某些環境中可存活很久的時間，具有對不利環境之耐受性，且此菌可隨空氣粉塵，由人類及動物吸入而感染。所以 Q 熱不僅可藉由人類與保菌動物親密接觸而造成感染，亦可能由無動物接觸史之人，因吸入病原污染之粉塵因而感染；以本研究的檢驗資料顯示：南台灣的牛羊飼養場普遍有 Q 熱菌之存在，這些遭受感染的動物將菌體排出牧場的環境中，

長期下來累積於環境中的菌體含量可能極高，是否容易造成一些因空氣傳播而無動物接觸史的病例，有待進一步的研究探討釐清。

伍、結論與建議

依據本研究之結果，Q 熱菌已普遍存在於南台灣牛羊飼養場，這些陽性飼養場可能為人類 Q 熱感染的來源；而這些動物飼養的相關從業人員是感染 Q 熱之相對高危險族群，建議責權防疫單位可加強衛教宣導，使其採取適當之防護，降低自身於本病之感染並減少向外傳染擴散本病之機會。另外本研究顯示家貓亦可能為人類感染 Q 熱之帶菌者，需進一步研究調查。

陸、計畫重要研究成果及具體建議

依據本研究之結果，顯示 Q 熱菌可能已普遍存在於南台灣牛羊飼養場，且此菌不但可藉由產道分泌物排出，亦可藉由牛、羊之乳汁排出，這些陽性飼養場可能為人類 Q 熱感染的來源。

建議權責防疫單位可針對特定人員加強衛教宣導。也就是對於這些動物飼養的相關從業人員，包括畜主、牧場工作人員、動物運輸業者、肉品市場/屠宰業者及獸醫院/獸醫師/助理，防疫權責單位可經由農政主管機關協助，持續對上述人員加強衛教宣導，例如於相關農政會議上發放宣導資料與與會人員或進行講習，或直接將資料分送獸醫院、肉品市場/屠宰場等，使上述人員有所警覺並採取適當之防護，降低自身於本病之感染並減少向外傳染擴散本病之機會。

另外本研究顯示家貓亦可能為南台灣人類感染 Q 熱之帶菌者，需持續注意觀察或進一步研究調查。

柒、參考文獻

1. Maurin MRaoult D: Q fever. *Clin Microbiol Rev* 1999;12:518-53.
2. Higgins DMarrie TJ: Seroepidemiology of Q fever among cats in New Brunswick and Prince Edward Island. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1990;590:271-4.
3. Guatteo R, Beaudeau F, Berri M, et al: Shedding routes of *Coxiella burnetii* in dairy cows: implications for detection and control. *Vet Res* 2006;37:827-33.
4. Rodolakis A: Q Fever in dairy animals. *Ann NY Acad Sci* 2009;1166:90-3.
5. Rousset E, Berri M, Durand B, et al: *Coxiella burnetii* shedding routes and antibody response after outbreaks of Q fever-induced abortion in dairy goat herds. *Appl Environ Microbiol* 2009;75:428-33.
6. Fournier PE, Marrie TJRaoult D: Diagnosis of Q fever. *Journal of clinical microbiology* 1998;36:1823-34.
7. Dorko E, Kalinova Z, Weissova T, et al: Seroprevalence of antibodies to *Coxiella burnetii* among employees of the Veterinary University in Kosice, eastern Slovakia. *Ann Agric Environ Med* 2008;15:119-24.
8. Tissot-Dupont H, Amadei MA, Nezri M, et al: Wind in November, Q fever in December. *Emerg Infect Dis* 2004;10:1264-9.
9. Delsing CEKullberg BJ: Q fever in the Netherlands: a concise overview and implications of the largest ongoing outbreak. *Neth J Med* 2008;66:365-7.
10. Chaillon A, Bind JL, Delaval J, et al: [Epidemiological aspects of human Q fever in Indre-et-Loire between 2003 and 2005 and comparison with caprine Q fever]. *Med Mal Infect* 2008;38:215-24.
11. Wang JH, Wang YH, Cheng DL, et al: Acute Q fever: first case report in Taiwan. *J Formos Med Assoc* 1993;92:917-9.

12. Chao-Chin Chang P-SL, Min-Yi Hou, Chien-Chou Lin, Min-Nan Hung, Tzong-mu Wu, Pei-Yun Shu, Wen-Yi Shih, John Han-You Lin, Wan-Ching Chen, Ho-Sheng Wu, Li-Jen Lin: Identification of risk factors of *Coxiella burnetii* (Q fever) infection in veterinary-associated populations in southern Taiwan. *Zoonoses and Public Health* 2009.
13. Berri M, Laroucau K, Rodolakis A: The detection of *Coxiella burnetii* from ovine genital swabs, milk and fecal samples by the use of a single touchdown polymerase chain reaction. *Vet Microbiol* 2000;72:285-93.
14. Berri M, Rekiki A, Boumedine KS, et al: Simultaneous differential detection of *Chlamydomydia abortus*, *Chlamydomydia pecorum* and *Coxiella burnetii* from aborted ruminant's clinical samples using multiplex PCR. *BMC Microbiol* 2009;9:130.
15. Masala G, Porcu R, Daga C, et al: Detection of pathogens in ovine and caprine abortion samples from Sardinia, Italy, by PCR. *J Vet Diagn Invest* 2007;19:96-8.
16. Klee SR, Tyczka J, Ellerbrok H, et al: Highly sensitive real-time PCR for specific detection and quantification of *Coxiella burnetii*. *BMC Microbiol* 2006;6:2.
17. Rodolakis A, Berri M, Hechard C, et al: Comparison of *Coxiella burnetii* shedding in milk of dairy bovine, caprine, and ovine herds. *J Dairy Sci* 2007;90:5352-60.
18. Cairns K, Brewer M, Lappin MR: Prevalence of *Coxiella burnetii* DNA in vaginal and uterine samples from healthy cats of north-central Colorado. *J Feline Med Surg* 2007;9:196-201.
19. Komiya T, Sadamasu K, Toriniwa H, et al: Epidemiological survey on the route of *Coxiella burnetii* infection in an animal hospital. *J Infect Chemother* 2003;9:151-5.
20. Nagaoka H, Sugieda M, Akiyama M, et al: Isolation of *Coxiella burnetii* from the vagina of feline clients at veterinary clinics. *J Vet Med Sci* 1998;60:251-2.

捌、圖表

表一 經濟動物檢體採檢數量及來源場數

動物檢體種類	動物檢體隻數／來源場數		
	高雄縣	屏東縣	合計
牛 乳汁	*／25	*／23	*／48
羊 乳汁	*／29	*／26	*／55
牛 產道分泌物	130／26	129／26	259／52
羊 產道分泌物	115／23	103／21	218／44

*牛羊乳汁每場採集總乳，不採集個別動物乳汁

表二 寵物檢體採檢數量及來源

檢體種類	檢體隻數		
	高雄縣#1	高雄市#2	合計
狗 產道分泌物	100	268	368
貓 產道分泌物		187	187

#1 檢體採自高雄縣動物收容所收容之犬隻

#2 檢體採自 6 家位於高雄市之動物醫院就診之寵物

表三 經濟動物檢體 PCR 檢測結果（個別動物及牧場盛行率）

動物檢體種類	(個別動物及牧場)盛行率		
	高雄縣	屏東縣	合計
牛 產道分泌物	15.4% (20/130)	14.7% (19/129)	15.1% (39/259)
Herd prevalence	30.8% (8/26)	26.9%(7/26)	28.8% (15/52)
羊 產道分泌物 [@]	51.3% (59/115)	28.2% (29/103)	40.4% (88/218)
Herd prevalence [#]	78.3% (18/23)	38.1% (8/21)	59.1% (26/44)

@, #: 羊隻產道分泌物在高雄縣與屏東縣兩地之陽性率有統計學上的差異

表四 總乳 PCR 檢測結果（牧場盛行率）

動物檢體種類	盛行率（陽性場數/檢驗場數）		
	高雄縣	屏東縣	合計
牛 乳汁	52.0% (13/25)	21.7% (5/23)	37.5% (18/48)
羊 乳汁	3.4% (1/29)	3.8% (1/26)	3.6% (2/55)

表五 寵物檢體 PCR 檢測結果

檢體種類		盛行率 (陽性隻數/檢驗隻數)
狗	產道分泌物	0% (0/368)
貓	產道分泌物	1.1% (2/187)