

従い、逆転写反応を実施。最終 cDNA 反応液を HPLC グレード水により10倍希釈した。

Heaton ら(1997)により報告された方法により、狂犬病特異的ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)増幅を実施した。つまり、この方法でプライマー JW12 と3種の混合プライマー JW6 (DPL, E, M) を用いて606bp の核蛋白質領域が増幅され、全ての既知のリッサウイルスで増幅がみられる。増幅はいずれも、PEC Thermal Cycler2400 (Perkin Elmer)にて、変性温度95°C、アニーリング温度45°C、伸長温度72°Cで実施された。プログラム終了時に、検体を1.8%アガロースゲルで、 ϕ x174分子量マーカー(Invitrogen Life Technologies)と比較分析を行った。Heaton らの報告(1997年)に従い、プライマー JW12 と混合内部プライマー JW10 (P, ME1, DLE2) を用いて、hemi-nested 増幅を実施した。これらのプライマーを用いた標準的な反応により、586bp の PCR 産物が得られる。PCR の偽陽性結果を避けるため、他の報告(Kwok および Higuchi, 1989年)に従い、PCR の注意事項を厳密に遵守した。すでに報告された方法(Whitby 他, 1997年)で、PCR 酵素免疫測定法(ELISA)を実施した。

系統発生的分析: BigDye 配列解析キット (Perkin-Elmer)を用い、一次 PCR 反応産物の配列決定を行った。配列を EditSeq ソフトウェア (DNASTAR, マディソン, ウィスコンシン)により編集し、ClustalW プログラム(バージョン1.5)によりアラインメントを行った(Thompson 他, 1994年)。PUZZLE32プログラムを使用して、転位/転換比(Transition/transversion ratio)を決定した。PHYLIP package (バージョン3.5)の近隣結合プログラム(Saitou および Nei, 1987年)を使用して、系統発生分析(最尤法)を行った。(Consense プログラムによる)距離行列の作成、近隣結合解析、合意樹(consensus tree)の作成前に、SEQBOOT プログラム(100 replicate)を使用して、ランダム入力あるいは bootstrap 法により、Neighbour programme で再度、データ解析を行った。DRAWGRAM プログラムにより進

化系統樹の作成を行った。Bootstrap 値は、TREEVIEW プログラムで作成された系統樹の中に表示した。70%以上の Bootstrap 値は有意と考えられた。DRAWGRAM フェノグラムは Freelance Graphics97(ロータス)により編集された。

[結果] 皮膚および唾液中の迅速狂犬病核酸検出(表1:省略)には、提出された生前検体から得られた結果をまとめた。従来の狂犬病診断法(RTCIT と MIT)では、提出された検体のいずれからウイルスは検出されなかった。2日目に採取された検体は、実施された全ての検査法で陰性であった。入院4日目に採取された第2セットの検体については、PCR 法に基づく分析のみで明確な結果が得られ、末梢部位に検体採取時点で存在した低濃度のウイルスを反映していた可能性がある。検体入手後36時間以内に PCR 産物の配列決定を実施した。死後検体が得られていないため、これが唯一の狂犬病症例の確認となった。

フィリピンの分離ウイルスとの系統発生的比較:

創傷部の検体(入院4日目)から309ヌクレオチドの配列が得られた。一次配列解析により、この分離ウイルスは著者らの記録では新規であるが、アジアでの分離ウイルスとの相関が認められた。その後、フィリピンの狂犬病イヌ由来の3種の配列(94270phi, 94273phi, 94280phi)(パスツール研究所, フランス, Dr. Herve Bourhy の厚意による)および最近になってフィリピンの熱帯医学研究所へ提出された2種のウイルス株(RV1120と RV1121)は、特性決定および直接比較のため、獣医学研究所(ウェーブブリッジ)に送付された。その後、数種類のフィリピンの分離ウイルス株および配列データが得られ、イギリスでの分離ウイルスがフィリピン起源のウイルスであり、2001年にフィリピンの熱帯医学研究所で検査した狂犬病のイヌから得られたウイルスと非常に類似していることが確認された。合計19のウイルス配列の比較を行い、詳

細を(表2:省略)に示す。イギリスでの分離ウイルスとフィリピンで得られた5種の分離ウイルスのヌクレオチド置換率を示す(表3:省略)。

[考察] ヒト狂犬病が疑われた場合、正確で迅速な診断が必要となる。ヒト狂犬病症例においては、生前であれば適切な患者管理を行うため、死後であれば接触者に早期に曝露後ワクチン接種を行うためにも、迅速な鑑別診断が必要である。従来の狂犬病の死後診断検査は、小脳、海馬、髄質のスタンプ検体でのFATである。また、RTCIT(高感度神経芽腫細胞によるウイルス分離検査)も日常的に実施される。しかし、通常は両検査とも死後の脳材料のみで実施される。

残念ながら、現時点では信頼性の高い生前診断法は確立していない。臨床徴候が明らかになるより前から狂犬病ウイルスは脳に存在している。唾液、髄液、角膜印圧、皮膚生検検体において、生前に狂犬病ウイルスあるいはウイルス抗原が検出される可能性がある。いくつかの研究グループにより、角膜印圧検体(ZaidmanおよびBillingsley, 1998年; Awasthi 他, 2001年)および皮膚生検検体(BinghamとMlambo, 1995年)でのFATの成功が報告されている。通常のヒト狂犬病症例の検査を行う研究室においては、生前皮膚生検はFATによる抗原検出の目的で実施される。著者らの研究室においては、組織切片でのFATは実施していない。皮膚生検検体の免疫蛍光検査により、動物で狂犬病ウイルス抗原が検出されている。しかし、疾患の早期には、陽性結果を得るには十分な細胞または抗原がない可能性がある。さらに、疾患の後期には、おそらく中和抗体のため、生検検体、唾液、髄液にウイルスが検出されない可能性がある。したがって、陰性結果でも狂犬病感染を否定できない。そのため、通常検査結果よりも臨床所見および病歴に基づいて、生前狂犬病診断がなされる。生前検体について実施された従来

検査法の全てで狂犬病ウイルスが検出できなかったことから、本症例においても検査の信頼性の欠如が示されている。

最近、生前の髄液および唾液検体のウイルス核酸の検出のため、RT-PCRが実施されている(Crepin 他, 1998年)。免疫蛍光法による検査については、RT-PCRの陰性結果によっても疾患を除外しえないと考えられる。しかし、RT-PCR法は非常に感度が高く、PCR産物が得られれば、分離ウイルスの遺伝子型を決定できることも利点といえる。本症例において、入院2日目に得られた生前の唾液および皮膚生検検体は、hemi-nested RT-PCRで陰性であった。興味深いことに、2日後に採取された検体は陽性と判明し、採取部位での一時的なウイルスの存在あるいは疾患進行に伴うウイルス濃度の上昇のいずれかを示すと考えられる。

検出された分離ウイルスは、古典的な狂犬病ウイルス(遺伝子型1)と判明した。著者らのデータベース内の代表的なN遺伝子の遺伝子配列を用いた詳細な系統発生分析により、本ウイルスはアジアでの分離ウイルス、特に2001年にフィリピンで狂犬病イヌから得られたウイルス株と相関がある(99%の相関性)と判明した。異なるアジアの分離ウイルスのbootstrap support値は高く(>70)、これらの分離ウイルス間の強い相関が示唆された。さらに重大なことは、フィリピン由来の分離ウイルスの間の系統樹の結節のbootstrap値(>80)から非常に強い相関が示された。

本症例から、狂犬病常在国を旅行中に咬傷を受けた場合は、迅速に曝露後発症予防を受けるように推奨する必要があることが示された。さらに、日常的に人間の狂犬病症例の診療経験のない開業医には、特に患者に臨床的な脳炎がみられる場合には狂犬病の鑑別診断を考慮するよう助言すべきである。狂犬病常在国で動物に咬まれたり、粘膜をなめられた場合には特に重要である。また、北米およびオーストラリアを含む特定の国では、野生コウモリの狂犬病が報

告されており、コウモリ咬傷を受けた者に対して、PEPが推奨される。

本報告は、従来の診断法で狂犬病を検出できない患者において、PCR分析により狂犬病診断が可能となることを示した。さらに、これらの結果から、動物宿主と分離ウイルスの地理的位置の両方から分離ウイルスの追跡を行う系統発生学の威力が示された。

本症例では高感度 hnRT-PCR の使用により検出に成功したが、イギリスで2例目の症例(2001年6月にナイジェリアより輸入狂犬病症例)の生前検体材料では、実施された全ての検査法で

陰性であった。この症例では唯一、死後の脳材料から臨床診断が確認された。このことから、全ての狂犬病症例で使用可能な信頼性の高い生前診断検査は存在しないといえる。しかし、RT-PCRによる分析は、分離ウイルス株の遺伝子型を決定することができるため、明らかに有効な検査である。さらに、分析は低バイオハザード実験室で実行可能であるほか、6時間足らずで一次PCRの結果が得られるなど迅速である。従来の狂犬病診断法が成功しない状況では、PCR分析は現実的な代替法であろう。

ヒト狂犬病症例：カナダ，ブリティッシュコロンビア州，2003年1月

(Parker R et al.: Can Commun Dis Rep:2003;29:137-138)

2003年1月30日、カナダのブリティッシュコロンビア州バンクーバー近郊に在住の52歳男性が、診断されぬまま、コウモリ由来の狂犬病ウイルスを原因とする脳炎で死亡した。狂犬病との診断は同年3月3日の死後脳組織検査時まで考慮されなかった。本症例はブリティッシュコロンビア州で初めて正式報告されたヒト狂犬病症例と考えられ、ブリティッシュコロンビア州内での狂犬病死亡例としては2例目である。本報告では、当初の症状および公衆衛生上の対策の概要を示す。

[症例03-4] 患者は2003年1月6日、地域病院を受診し、2日前からの左上腕の脱力感を訴えた。その日は帰宅したが、翌日再び受診し、脱力感が両腕に拡大したこと、および深部腱反射の低下を訴えた。首や四肢には顕著な痛みはなく、見当識に異常なく、無熱であった。主な既往歴として、2000年9月に腎臓移植を受けていた。

患者の呼吸筋は急速に冒され、1月8日には救急処置室で大量の鎮静剤を投与し、挿管後、集中治療室に搬送された。続く7日間、脱力感

と反射低下が両脚にも拡大した。暫定的診断は非典型的ギラン・バレー症候群であったが、免疫グロブリンの静注には反応しなかった。

1月16日、専門病院のICUに移送され、神経筋疾患部門で治療を開始した。1月18日、気管切開を行った。検査と治療を続けたにも関わらず、患者の容態は悪化し、脳死に至った。1月30日には人工呼吸器を外し、診断確定できない神経障害により患者は死亡した。

[検査結果] 3月3日、患者の脳組織病理切片が、三次病院の神経病理学専門家に初めて検査のために供された。広範な髄膜の炎症がみられ、顕著な細胞内封入体(ネグリ小体)が脳全体に生じ、神経細胞の大部分を冒していたことから、診断として狂犬病が考えられた。同日、ブリティッシュコロンビア州疾病予防センターおよび地域の公衆衛生当局に診断結果が通知された。直接蛍光抗体検査(DFA)、逆転写ポリメラーゼ反応(RT-PCR)試験による確認を行うため、オンタリオ州オタワの狂犬病専門センター(Centre of Expertise for Rabies)に脳組織を翌日配送するよう手配した。3月4日、DFA

法の結果が狂犬病強陽性であった旨、ブリティッシュコロロンビア州内の保健当局職員に連絡が入った。

3月3日、患者の妻から聞き取った患者の生活歴によると、患者は過去12ヵ月間、州内から出たことがなく、また生涯一度もアメリカ大陸を出たことがなかった。夫婦はバンクーバー近郊の都市地域に居住しており、家屋内にはコウモリが入りこんだ経歴はなかった。イヌを1匹、ネコを2匹飼っていたが、いずれも健康であった。患者はアウトドア活動やハイキングに熱心で、森林地区に頻繁にトレッキングに出かけていた。過去1年間、コウモリ(または他の動物)による咬傷や擦過傷について家族に話したことはなかったが、前年に、ブリティッシュコロロンビア州の廃屋に入ったときコウモリが近くにいたと家族に話したことがあったという。

続いて行われた単クローン抗体、RT-PCR法により、ホオヒゲコウモリ(little brown bat を中心とする種)に関連するウイルス変異株であると同定された。

[公衆衛生当局の対応]

3月3日、地域内の接触者および両病院内で曝露を受けた可能性のある医療従事者を対象に、狂犬病曝露後発病予防(PEP)に向けた準備を開始し、翌4日には両病院で曝露された職員への接種を開始した。患者の感染期間中、患者の体液と直接接触した家族、友人、職員、および他の患者を特定し、正式なインフォームド・

コンセントを行った上でPEPを行った。感染期間は、最初の症状が発現する1週間前から入院中と見なされた。危険度評価基準に基づくトリアージを最初に行い、挿管や呼吸管理に関わるなどして、患者の唾液に粘膜または皮膚が曝露された危険度が高い者を特定した。曝露が確実または曝露の可能性があるとしてPEPを受けた医療従事者は最終的に約440名にのぼった。家庭内で接触した可能性のある者(妻、姪)および唾液に曝露された可能性のある地域住民12名も、PEPを受けた。

[考察] 本症例は、麻痺型狂犬病という非典型的な症状を呈した点、また診断が遅れた点、さらには入院期間が長かった点、挿管、気管切開を行った点から、感染した体液や組織に曝露された可能性のある医療従事者の数が大きく増えた。患者の免疫低下状態がウイルス排出にどの程度影響与えたかが定かでないことも、少しでも接触の可能性のある者であればPEPを行うことにつながった。

ブリティッシュコロロンビア州では、狂犬病ウイルスはコウモリにのみ常在する。ヒトと接触したコウモリを検査すると10%が狂犬病陽性を示し、コウモリの全頭数の1%が感染していると推定されている。ブリティッシュコロロンビア州では毎年、狂犬病曝露の可能性を理由に数百人がPEPを受けるが、うち80%がコウモリとの接触が原因となっている。

狂犬病免疫グロブリン投与なしで曝露後8ヵ所皮内接種法を受けたタイ人小児狂犬病患者

(Sriaroon C et al. Vaccine. 2003 ;21:3525-3526)

[要約] イヌに咬まれた7歳のタイ人女児の症例を報告する。女児は受傷後ただちに創部の治療を受け、次いで精製ニワトリ胚細胞ワクチンを8ヵ所に皮内接種する曝露後発症予防を受

けた。狂犬病免疫グロブリン(RIG)の使用ができない困難な状況のなかで、WHOが推奨する治療方式に従った。患者は15日後に、古典的な脳炎型狂犬病の症状および徴候を呈して死亡した。

[症例03-5] 7歳女児が、2002年3月8日に学校へ行くため靴ひもを結んでいるときに、隣家の生後3ヵ月の狂犬病ワクチン未接種の子イヌに襲われた。女児は左眉の上に深さ1cmの掻き傷と、左頬に3cmの皮膚擦過傷を負った。左腕皮膚にも擦過傷が認められた。その後の調査で子イヌの母イヌが最近、原因不明の疾患で死亡したことが明らかになった。この子イヌは女児に咬みつく前に、目的もなく駆け出したり、物に咬みついたり、木やその他の構造物にぶつかっているところの確認されていた。子イヌは昏睡状態となり、咬傷の翌日に死亡した。子イヌに対して、実験室内検査は行われなかった。

女児の祖母は、咬傷から20分以内に近くの Prachinburi Provincial 病院に女児を連れて行った。曝露後発症予防(PEP)が病院到着後すぐに開始された。創部を洗浄し、betadine 溶液を塗布した。Prachinburi には狂犬病免疫グロブリン(RIG)がなく、職員は WHO およびタイ保健省による、RIG が入手できない場合の狂犬病曝露後ワクチン接種のガイドラインに従い治療を行った。インドで製造されたカイロン社(ドイツ)製の精製ニワトリ胚細胞ワクチン(ロット667, 力価9.5IU/mL, 有効期限2005年7月)を使用し、8ヵ所皮内接種法による PEP を行った。0日目、本法の経験がある看護師が8ヵ所にワクチンを0.1mL ずつ皮内接種した。アモキシシリンおよび破傷風トキソイドの追加接種も実施された。

3月15日に第2回目接種として、ワクチンを4ヵ所に皮内接種した。この時点では患者の状態は良好に見えた。その後、29日目と90日目に推奨されている0.1mL の1ヵ所追加接種を行う予定であった。咬傷から11日後の3月19日、女児は頭痛を訴え発熱も認められた。祖母は女児を村の保健所に連れて行き、アモキシシリンの追加経口投与が行われた。同日夜に嘔吐があり、発熱は持続した。3月20日、女児の意識は混濁したが、質問に反応し回答も可能であった。Prachinburi Provincial 病院を再度受診し、

39.4℃の発熱のため入院した。アンピシリンの静脈内投与が開始され、女児は隔離された。病院の担当医は、鑑別診断として狂犬病を考えた。翌朝、女児は左耳の激痛を訴えたが、これはイヌ咬傷と同部位であった。耳鼻科医が診察したところ、外耳道は正常であった。しかし、左側末梢性顔面神経麻痺の所見が認められ、医師は乳様突起領域と頭部の CT を指示した。その結果、有意な所見は認められなかった。午後から夜にかけて女児は落ち着きをなくし、空気の流れや部屋に人が入ってくる度に両腕の痙攣が認められた。また幻視や興奮が発現したり、正常の行動を呈したりする状態が交互にみられた。女児は飲食を拒否した。3月22日に腰椎穿刺が実施されたが、異常所見は認められなかった(無色透明、赤血球45, 蛋白質46, 白血球40, 髄液糖64, 血清糖121)。

狂犬病の PCR のため、髄液検体をバンコクにあるリファレンスラボラトリーに送付したが、輸送中に紛失した。日常検査ではヘモグロビン12.4, ヘマトクリット38, 白血球11,400, 多核球75, リンパ球15, 単球7, 尿中白血球20, 尿中赤血球5-10, 血小板303,000, 電解質は正常, BUN10, クレアチニン0.6であった。同日深夜、女児は昏睡状態となり、Chonburi 地域病院に転院した。転院先で気管内挿管が行われたが、2002年3月23日、イヌ咬傷の15日後に循環不全のため死亡した。残念ながら剖検は行われず、狂犬病の診断を行うための血清、皮膚その他の検体は採取できなかった。狂犬病の診断は、狂犬病常在地域における多くの患者と同様、既往歴(イヌ咬傷, 前駆症状), 発熱, 頭痛, 意識レベルの変化といった古典的な症状, 恐風症や恐水症に基づいてなされた。適切な処置(適切な創部管理, 有効な組織培養ワクチンの接種, 創部への RIG 投与)が行われても狂犬病の PEP が失敗することは、非常に稀ではあるが報告されている。重度の曝露(WHO カテゴリー3の場合, 現行の WHO の勧告では可及的速やかに、遅くとも曝露後ワクチン接種開始後7日目までに、

RIG を投与するよう推奨されている。残念ながら、本例の女兒に関しては、この勧告に従うことは不可能であった。我々の知る限り、免疫グロブリンを投与しない迅速皮内接種法の失敗例としては初めての症例である。しかし WHO ガイドラインに従って、狂犬病免疫グロブリンを投与していれば女兒が救命できていたか否かは不明である。免疫グロブリンを投与しない迅速皮内接種法と、従来の5回筋肉内接種法、あるいはRIGが入手不可能な場合のタイ赤十字皮内接種法とでは、どちらが予防効果が高いのか、判断することは極めて難しい。その場合、検査によって狂犬病と確認された動物により重度咬傷を受けた患者を相当数選び出し、その患者に対し倫理委員会の承認を得た上でRIGなしで

の治療を行う必要がある。このような臨床試験は、RIGが入手不可能な地域でしか実施できないであろう。WHO 勧告のうち、狂犬病の重度曝露患者を対象としたRIGが使用できない場合の治療方法については、重度の狂犬病曝露患者における咬傷部位への免疫グロブリン投与にかわる代替手段と誤解されないよう、改訂する必要がある。改訂方法としては例えば、RIGなしのワクチン接種は未確認の方法であり、RIGが入手不可能で他に対策が一切とれない場合の最終手段である旨を記載するなどが考えられる。イヌの狂犬病が完全に予防されない限り、RIGの確保、またはモノクローナル抗体混合製品などのRIG代替品の確保に向け、努力を続けることが求められる。

アライグマ狂犬病に関連した初のヒト死亡例： ヴァージニア州，2003年

(CDC MMWR 2003;52:1102-1103)

狂犬病は、感染動物に咬まれることにより引き起こされる、急性、進行性、不治のウイルス性脳炎である。2003年3月、ヴァージニア州北部の25歳の健常男性が、発症から3週間後に病因不明の髄膜脳炎と診断され、死亡した。CDCによる中枢神経系組織の組織病理学的検査により、ネグリ小体を示唆するウイルス封入体が示され、その後の検査にて狂犬病の診断が確認された。遺伝子配列により、アライグマが保有する狂犬病ウイルス変異株と確認されたが、感染状況は依然として不明である。この報告は、米国で初の、アライグマ狂犬病ウイルス変異株に関連したヒト狂犬病の記録症例の調査結果の概要で、狂犬病の予防と診断に関する継続的な教育が重要であることを示唆している。

[症例03-6] 2003年2月、患者は頭痛、全身痛、悪心、腹痛、悪寒、37.2-37.7°Cの発熱、空咳、気力低下のため医師を受診した。患者の妻は後

日、受診前数日間に若干の人格変化があったと報告した。6日後、目覚めたときは見当識障害があり、歩行不安定と言語不明瞭を伴っていた。患者は現地の救急部で診察を受け入院した。理学的検査で、軽度の運動失調および錯乱を認めた。臨床検査で、有意なナトリウム低下が見られた。腰椎穿刺では、白血球数24/ μ L(正常値：0-5細胞/ μ L)、赤血球数10/ μ L(正常値：0-5細胞/ μ L)、グルコース濃度58mg/dL(正常値：40-70mg/dL)、蛋白質濃度81mg/dL(正常値：15-45mg/dL)と判明した。脳波上、全般的な徐波化を認めた。脳磁気共鳴画像では、視床下部および左右側頭葉内測でT2高信号が認められた。

その後も発熱および低ナトリウム血症(範囲：119-125 mmol/L)が遷延し、意識レベルの低下がみられた。入院5日目に挿管された。また、右半身に攣縮が認められた。6日目、患者は無反応で、ほぼ一定のミオクローヌス発作がみら

れた。11日目、頭部 CT 検査により、脳溝の消失および、び漫性の脳浮腫が認められた。昏睡状態が続き、断続的に発熱がみられた。高度集中治療にもかかわらず、入院14日目に死亡した。

剖検時、組織病理学的評価により、大脳半球の皮質・白質、深灰白核、小脳、脊髄を含む重度の髄膜脳炎が認められた。研究所に提出された脳組織の *Naegleria* 属アメーバに対するポリメラーゼ連鎖反応(PCR)は陽性であった。

狂犬病の可能性については、入院中に一時議論されたが、既往歴および臨床像を検討した結果、さらなる検討の対象とはならなかった。脳の生検が予定されたが、血行動態不安定のため、中止された。当初の脳組織顕微鏡検査で、ウイルス感染を示唆する封入体は検出されなかった。

病理学的評価のため、組織は CDC に提出された。*Naegleria fowleri* を含む各種のアメーバについての免疫組織化学(IHC)分析の結果は陰性であった。しかし、複数の脳領域のニューロンに細胞質内封入体が多数認められたことから、狂犬病の診断が示唆された。狂犬病ウイルスの IHC 染色により、診断が確認した。固定脳組織の間接および直接蛍光抗体法検査、RT-PCR 検査などの追加により、狂犬病の診断は支持された。凍結脳組織のヌクレオチド配列解析およびモノクローナル抗体による抗原決定により、特異的病原体は、米国南東部のアライグマ狂犬病ウイルス変異株であることが示された。遺伝子配列解析にて、ヴァージニアのアライグマ狂犬病ウイルス変異株と100%の相同性が認められた。

約125人の親族および関係者、そして173人の医療従事者に対して、患者の分泌物や組織に直接、無防備に曝露されていないか、後ろ向き調査が行われた。詳細な調査後、5人の親族および3人の病院関係者が患者の分泌物に曝露された可能性があるため、狂犬病曝露後発病予防(PEP)を受けた。

患者は内勤者で、過去6年間、アライグマ狂

犬病の常在地域に居住、勤務し、余暇を過ごしていた。しかし、家族、関係者、同僚に対する詳細な面接調査から、患者にはアライグマ狂犬病ウイルス変異株に感染している可能性のある陸生動物との明らかな接触はなかったことが判明した。患者は野外で長時間過ごすことはないが、キャンプの時あるいは、ゴミ箱、木材置き場、その他の野外環境で、狂犬病の哺乳動物に遭遇した可能性はある。

編集部注：米国では毎年、約7,000-9,000例の動物狂犬病症例が診断されている。本報告は、アライグマ狂犬病ウイルス変異株に関連したヒト狂犬病としては最初の症例報告である。1990年以来、米国で報告された37例のヒト狂犬病症例のうち、米国内で感染したと推測される30例中28例では、感染が疑われる動物による咬傷歴が記録されていない。本患者からのアライグマ狂犬病ウイルスの分離により、ヒト症例はイヌ、ネコ、コウモリ、キツネ、スカンク、コヨーテ、ヤマネコなど米国内での全ての狂犬病保有宿主ないし媒介動物との関連が確認された。通常、明らかな動物曝露歴のないヒト狂犬病症例は、コウモリ狂犬病ウイルスに関連している。損傷が小さいため受診しないことや、実際の曝露事象を認識していないこと、コミュニケーション(例：言語)の障害や、脳炎患者での記憶喪失や言語障害による回想困難などが感染源の動物を特定するうえで障害となる。潜伏期は通常、曝露後1-3ヵ月間であるが、まれに1年以上となることがあり、その場合は適切な既往歴の聴取はさらに困難となる。

1970年代後半、おそらく米国南東部から感染動物が移動した後、ヴァージニア州やウェストヴァージニア州で狂犬病のアライグマが確認された。アライグマ狂犬病は地域内に蔓延し、現在までに約5万頭の狂犬病のアライグマが診断されている。2003年にはテネシー州が20番目の感染州となり、現在、アライグマの狂犬病発生地範囲は東カナダからフロリダ州まで

拡大している。

急性発症し、急速に進行する脳炎の鑑別診断においては、動物咬傷歴の有無に関わらず、狂犬病を考慮する必要がある。公衆衛生局へのヒト狂犬病の正確な報告と曝露された人々への、PEP を含む適切な感染予防策の速やかな実施のためには、迅速な生前診断や死後診断が不可欠である。

予防接種諮問委員会は、ヒト狂犬病予防のガイドラインを発表しており、感染が疑われる症例管理のための勧告も出されている。ヒト狂犬

病のPEPは迅速かつ適切になされれば有効である。ヒト-ヒト感染は懸念されるが、狂犬病患者に曝露された医療従事者の狂犬病症例は報告されていない。本報に述べた症例に関しては、患者の分泌物に接触した人々が特定可能であったため、慎重に危険度評価を行い、PEPを受けられる人数を制限することができた。救急医療医師、感染症専門医、州および米国の公衆衛生局は、複雑な、または一般的ではない曝露状況の場合に、この致命的な疾患の予防や診断に有用な助言をすることができる。

コウモリ狂犬病によるヒト死亡例：米国カリフォルニア州，2003年

(CDC MMWR 2004;53: 33-35)

狂犬病は、急速進行性で不治のウイルス性脳炎であり、ごくまれな例外を除き、感染動物に咬まれることにより感染する。2003年9月14日、カリフォルニア州トリニティ郡在住の66歳健康常男性が、コウモリに咬まれてから約6週間後に狂犬病で死亡した。本報告は、トリニティ郡とシャスタ郡の衛生局、そしてカリフォルニア州衛生福祉局 (CDHS) による調査結果をまとめたものである。人間がコウモリに直接接触することは避けるべきだが、もし接触した場合には、曝露された人はすぐに医師を受診し、地域の公衆衛生局に曝露の報告を行う必要がある。

[症例04-1] 2003年9月、患者は非定型的胸痛のため病院の救急部に入院した。その他の症状としては軽度で非特異的な愁訴(眠気、慢性頭痛、倦怠感など)が2週間、右腕の疼痛と感覚異常が5日間続いており、前日から右手の脱力感も発現した。腕の疼痛は、夜間に目が覚める程度で、次第に悪化した。患者は、右腕から腋窩、左胸部まで体の両側に広がる激しい痛みを報告した。救急部でのニトログリセリン投与により、疼痛は軽減した。患者は入院の約5週間前にベッドで右手人差し指をコウモリに咬

まれたと報告した。患者は自宅からコウモリを駆除し、コウモリは飛び去った。その時、創傷部を洗浄したが、狂犬病曝露後発病予防(PEP)は受けなかった。患者が、咬傷部周囲の局所症状を主症状とする狂犬病初期段階で救急部を受診したため、入院当日に狂犬病ワクチン初回接種、狂犬病免疫グロブリン、リバビリン、インターフェロン・アルファの投与、その3日後に2回目の狂犬病ワクチン接種を行った。

入院時、患者は無熱、覚醒状態で、見当識正常であったが、右上肢の筋力低下、軽触覚の低下、軽度の集中力障害が見られた。白血球(WBC)数は13,900/ μ Lに増加(正常値:3,700-9,400/ μ L)していたが、その他の検査値は全て正常範囲内であった。翌週、錯乱や見当識障害の発現に伴い神経学的状態が悪化した。入院4日目に発熱し、気道確保のため挿管した。左右上肢の筋電図検査で、遠位の脱髄性多発神経障害が判明した。入院5日目、右側肺浸潤を発現し、脳波上広範な徐波化が認められた。2日後に患者は死亡した。患者の家族4人および、患者の治療に関与した40人の医療従事者のうちの2人は、予防措置としてPEPを受けた。患者の妻は、患者がコウモリに咬まれたときに同じベッド

で眠っており、同じコウモリに曝露された可能性があるため、PEPを受けた。検査のため、CDHSの Viral Rickettsial Disease Laboratory および CDC に生前に採取した検体、すなわち複数の唾液、血清検体、項部皮膚生検検体、尿、髄液が送付された。死後に角膜印圧検体も採取された。唾液検体は nested RT-PCR 法にて狂犬病ウイルス核酸陽性であった。塩基配列解析で、ギンイロコウモリ (*Lasionycteris noctivagans*) が保有する狂犬病ウイルス変異株と100%の相同性を認めた。

編集部注：米国でヒトの狂犬病はまれではあるが、コウモリとの接触の可能性がある場合、あるいは、原因不明の非定型的進行性神経障害または異常な有熱性脳炎が見られた場合、臨床医および公衆衛生局員は狂犬病を疑わなければならない。コウモリに直接接触した人は、速やかに医師を受診し、適宜 PEP を受ける必要がある。

狂犬病は急性、進行性で致死的な疾患である。発症前に狂犬病予防を受けた症例でのみ生存が報告されている。しかし、疾患の初期段階の患者に対しては、攻撃的治療法を試みることもある。狂犬病ワクチン、狂犬病免疫グロブリン、リバビリン、インターフェロン・アルファ、モノクローナル抗体、ケタミンなどによる治療法が推奨されている。本症例は、咬傷部位の知覚異常が主症状である初期段階で救急部を受診した。本症例では治療は成功しなかったものの、入院後約24時間以内に治療が開始され、上記薬剤のうち前から4剤の投与を受けた。

この致死症例は、カリフォルニア州において最近発生した2例のコウモリ関連ヒト狂犬病症例(2000年の Amador 郡, 2002年のグレン郡)に続く症例となった。しかし、上記2症例はメキシコオヒキコウモリ (*Tadarida brasiliensis*) 狂犬病ウイルス変異株に関連していたが、いずれも明確なコウモリ曝露歴は確認されていない。1990年から1998年の間に発生した、22例のコウ

モリ関連のヒト狂犬病症例のうち、16例(75%)はギンイロコウモリとアメリカトウブアブラコウモリが保有するウイルス変異株に関連していた。これらのウイルスは、その特性から感染と増殖が、他の狂犬病ウイルス変異株よりも広範囲に拡大する可能性がある。

1990年から2000年までの米国での合計32例のヒト狂犬病症例のうち、24例(75%)はコウモリが保有する狂犬病ウイルス変異株により引き起こされている。そのうち22例(92%)では、咬傷歴の記録がなかったが、それは典型的な咬傷による曝露がなかったことを意味してはならず、受診時あるいは調査時に曝露歴を明らかにできなかったことを意味している。

ヒト狂犬病は、迅速に適切な PEP を行うことにより発症予防可能である。しかし、患者が動物咬傷に関連した危険を認識していない限り、おそらく PEP は実施されないであろう。住居内でコウモリを発見し、曝露が起きた可能性が高い場合は、コウモリを現地公衆衛生研究所に提出し、診断検査を受けなくてはならない。また、コウモリの検査ができない場合でも、曝露の確率が高ければ PEP を行う必要がある。

今までに検査で確認された、患者から医療従事者あるいは家族へのヒト-ヒト感染の事例はない。狂犬病患者の治療は、患者から咬傷を受けた場合や感染可能性のある患者の体液に粘膜または傷のある皮膚が曝露された場合を除き、PEP の適応にならない。医療従事者が標準予防策を遵守することにより、曝露の危険度を最小限に抑えることができる。

公衆衛生専門家は、動物曝露を減らすために、またペットおよび家畜へのワクチン接種を進めるために有効な方策を再度強調する必要がある。狂犬病の可能性のある動物に咬まれた場合は、直ちに、1) 創傷部を消毒・洗浄し、2) 安全な方法で加害動物を捕獲し、3) 地域の衛生局へ連絡し、4) PEP の必要性について評価を受ける必要がある。

キツネ咬傷後の狂犬病脳炎—ウイルスによる病変の組織学的、 免疫組織化学的評価

(Suja MS et al. Clin Neuropathol 2004; 23: 271-276)

[要約] キツネ咬傷による狂犬病は稀で、多くの症例(95%)は狂犬病のイヌに咬まれたことが原因で発症する。狂犬病の野生キツネ (*Vulpes vulpes*: 中央インドのデカン高原で一般的な種)に咬まれて、狂犬病性脳脊髄炎を発症した45歳女性患者について報告する。キツネが狂犬病に感染しやすいことは知られているが、キツネの狂犬病によるヒトの病理変化に関する文献は少ない。イヌ由来狂犬病で報告されている軽度の組織学的変化と異なり、本症例では麻痺型狂犬病の臨床症状発現にもかかわらず、重度の小グリア反応、神経細胞浸潤、血管周囲炎症性浸潤などの急激な脳炎所見が認められた。狂犬病ウイルスヌクレオカプシド抗原およびビリオンに対するポリクローナル抗体を使用した免疫染色により、ウイルス抗原が、ニューロン内に多量に、また樹状突起および軸索に沿って広範に認められた。ゲノム配列分析により、イヌ由来狂犬病ウイルスとの高い相同性が示され、変異はごくわずかであった。

[序] 今日でも、狂犬病は発展途上国における重大な公衆衛生上の課題である。4,000以上の哺乳動物種が狂犬病に感染するが、飼いイヌは咬傷により狂犬病をヒトに感染させる最も重要な宿主である。感染症専門病院(北インド、デリー)での調査によると、狂犬病の伝播が記録された動物咬傷で最も多いのが野良イヌ(症例の90%)で、ネコ、ジャッカル、マングース、サル、キツネの順で続く。生息地、地域の習慣、獣医診療状況などにより、咬傷の原因動物には地域差がある。インドの様々な地域での動物咬傷の特徴を分析すると(n=869)、イヌとネコ以外に、ウシ、サル、ウマ、ブタ、ラクダなどの

動物が狂犬病の蔓延に関与していることが判明した。インドでは、マングース、ヒョウ、オオカミの咬傷により感染した狂犬病症例が稀に報告されている。ヨーロッパ、南カナダ、米国、北極地方、アラブ諸国、ネパール、パキスタン、チベット、インドにおいて、キツネの狂犬病症例が報告されており、キツネは確実な狂犬病宿主として認識されている。キツネは実験的感染においても容易に狂犬病に感染する。狂犬病の病因学的知見の大部分は、狂犬病ウイルスの弱毒固定株を使用した動物実験から得られている。この経過が、強毒性の街上ウイルス株が皮下組織および筋骨格に接種され、ヒトや動物に感染する自然界での発生過程を示すわけではない。ヒト狂犬病の神経病理学に関して発表されている文献において、イヌ咬傷により生じる脳、脊髄、末梢神経の変化は報告されているが、他の動物咬傷による神経病理学的変化は記録されていない。野生動物咬傷による狂犬病の神経病理学的評価により、ウイルス株ごとの差異および病原性が狂犬病の進行に与える影響についての洞察が得られると考えられる。

この点に留意し、南インドに位置するデカン高原の森林で、キツネ咬傷により感染したヒト狂犬病症例を報告し、神経病理学所見およびウイルス抗原の神経解剖学的分布について述べる。麻痺型狂犬病の病像を示したが、脳炎を示す激しい小グリア反応があり、ニューロン、軸索、星状膠細胞内には大量のウイルス抗原が認められた。

[症例04-2] 45歳女性が6日間続く中等度の発熱および嘔吐のため、Nizam 医科大学(中央インド、ハイデラバード)の神経内科を受診した。

発熱が認められた同日夜に右腕の脱力、麻痺性構音障害、嚥下困難、複視が認められた。翌日、脱力は進行し、左腕および両下肢に拡大した。発症3日目には昏迷状態となり、四肢不全麻痺は悪化した。発症6日目に総合病院に入院した。経過中に頭痛や痙攣は認められなかった。

症状が発現する3週間前、患者は森に薪を拾いに行き、野生のキツネに顔と前腕を咬まれた。この森は野生の木々が生える乾燥地帯で、インド中央部のデカン高原の都市、ハイデラバード近郊に位置する。地元の開業医により、創部の処置および抗狂犬病ワクチン Verorab (Vero 細胞培養ワクチン) の筋肉内接種を4回受けたが、抗狂犬病免疫グロブリンは入手不能のため投与されなかった。

入院時、患者は昏迷状態で、痛みのため目を見開いていた。咬傷痕は認められず、脈拍84BPM、呼吸は急速で浅く、血圧は118/80mmHgであった。神経学的検査では、意識消失が認められ、瞳孔の大きさは正常で対光反射あり、人形の眼現象は認められず、眼底は正常であった。全身の緊張低下、四肢麻痺、反射消失がみられ、足底反応は不定であった。髄膜刺激症状は認められなかった。経過中に恐水症や恐風症は認められなかった。咬傷歴から、麻痺型狂犬病の臨床診断のほか、ワクチン接種による急性散在性脳脊髄炎の可能性も否定できなかった。通常血液・生化学検査結果は正常範囲内であった。胸部 X 線で両側性に不均一の陰影が認められ、気管支肺炎が示唆された。入院2日目に実施されたMRIでは、T2強調画像およびFLAIR画像で視床、脳幹神経節、中脳、脳橋、延髄に両側性・対称性の高信号域が認められた。角膜印圧検体の免疫蛍光検査では狂犬病ウイルス抗原陰性であった。患者は人工呼吸管理を要し、入院11日目に死亡した。

[方法] 死後10時間後、近親者の同意を得て予防措置を行いながら、脳および内臓器官の調査を行う精密な剖検が行われた。脊髄および末梢

神経の採取は同意が得られなかった。

脳および臓器は、10%ホルマリンにより液浸固定し、組織ブロックをパラフィン包埋した。6 μ m厚の組織切片のヘマトキシリン・エオジン染色を実施した。狂犬病ウイルス抗原を検出するため、標準的な間接免疫ペルオキシダーゼ法による免疫組織化学染色を実施した。染色には、2種のポリクローナル抗体を使用した。

全狂犬病ウイルス粒子に対する抗体はウマを用いて産生させた(中央研究所、カサウリ、ヒマーチャルプラデシュ州、インド)。狂犬病ウイルスヌクレオカプシド蛋白に対する抗体は、ウサギで産生させた(自家製)。

抗体の特異性は、ブロッティング法および狂犬病脳炎と確定診断された症例の検体で検証した。免疫染色は、色素体としてHRPおよびDAB/H₂O₂で標識した適切な二次抗体により画像化した。一次抗体を省略して同様に染色手順を行ったものを陰性対照、診断確定した狂犬病患者および狂犬病のイヌの脳組織を陽性対照とし、正常脳組織をも陰性対照とした。抗原の分布を調べるため、必要に応じて、大型パラフィン切片を使用した。

免疫電子顕微鏡法(IEM)のため、オスミウムフリーのLRホワイト樹脂包埋法および通常の電子顕微鏡法のためにアルゲイト包埋法を実施した。ホルムアルデヒド固定組織切片は、Pelco International(米国)のプロトコルに従い、処理を行った。固定組織は、リン酸塩緩衝液(pH 7.4)で洗浄し、50%と70%アルコールにより部分的脱水を行った。樹脂2:70%アルコール1の混合液に1時間浸透し、回転装置を用いて100%LRホワイト樹脂を一晩浸透させた。組織は、平らな包埋皿に入れて、65°C/24時間で重合させた。ライカ-ウルトラカットUCTで10nm厚に切断した超薄切片を、ニッケル格子(300メッシュ)に採取し、松原らの報告(1996年)通り、狂犬病ウイルス核蛋白質に対するポリクローナル抗体(1:1,000)、および二次抗体として免疫金結合ヤギ抗ウサギ抗体(BBI

International, 1:50希釈)を使用し、免疫標識を行った。Jeol CX II Tem で観察を行うため、酢酸ウラニルおよびクエン酸鉛により切片の対比染色を行った。

LR ホワイトおよびアラルダイト包埋超薄切片は、酢酸ウラニルおよびクエン酸鉛により染色し、Jeol CX II Tem で観察を行った。従来法では、電子顕微鏡検査のため、アラルダイト包埋された組織を切断し、酢酸ウラニルおよびクエン酸鉛により染色を行った。グリッドは60kV Jeol100CX 顕微鏡下で観察した。

Hemachudha らにより開発された最新技術を使用し、前頭部皮質および小脳のパラフィン包埋組織で、狂犬病ウイルスのゲノム配列解析が行われた。比較のため、同一地域でのイヌ咬傷による狂犬病患者および狂犬病のイヌ(各1例)の前頭部皮質のウイルスゲノム配列の解析を行った。

[結果] 脳は浮腫状で、切断面に限局性のうっ血領域が認められた。内臓器官には肉眼的に明らかな病変は認められなかった。組織学的検査において、小脳のプルキンエ細胞に複数の細胞質内好酸性のネグリ小体が認められ、大脳皮質のニューロンや間脳核、下位脳神経核の一部に同様の封入体がみられた。特徴的な所見として、白質の多くの領域における血管周囲のリンパ球性・組織球性の厚い袖口様浸潤、および極軽度の脳脊髄膜の炎症が認められた。島皮質の下層、小脳のプルキンエ細胞周囲、小脳歯状核の全長、黒質および青斑の色素性ニューロンの周囲、橋核、脳幹の縫線および網様核、III, V, IX, XII 脳神経核、延髄の下オリーブ核に神経細胞貪食を伴う激しい小グリア反応が認められた。これらのニューロンの多くは、通常のヘマトキシリン・エオジン染色ではネグリ小体が確認できなかった。皮質白質、内包、延髄の内側の交差線維および小脳白質には、限局性の脱髓病変、星状細胞増加、軸索球状物が認められ、軸索求心路遮断が示唆された。小グリア反応お

よび神経細胞貪食はびまん性脳炎を示していたが、これは麻痺型狂犬病では一般的な所見ではない。

糖蛋白質を含む全ウイルス粒子に対する抗体により、ニューロン内に顆粒状および球状の細胞質内染色が認められ、樹状突起および軸索路に広く拡散していた。小脳歯状核のニューロン細胞体、下オリーブ核、縫線、網様核、下位脳神経核での染色濃度は高く、一様で、ウイルス抗原量が多いことを示していた。ウイルスヌクレオカプシドに対する抗体による免疫染色では、ニューロン細胞体、樹状突起、軸索に、より多くの孤立性、点状の染色が認められた。帯状回、島皮質、小脳、海馬、視床核、脳幹の脳神経核で染色は強く、ウイルス粒子に対する抗体での染色結果と同様であった。被殻とは対照的に、尾状核での染色はわずかだった。小脳の白質および放射冠では、多数の星状膠細胞および乏突起神経膠細胞の一部が染色されたが、脳梁および内包の神経膠細胞は染色されなかった。抗ウイルスヌクレオカプシド抗体により、血管周囲の組織球および単核球の多くは染色されたが、血管周囲の小グリア細胞はほとんど染色されてなかった。

大脳皮質では、免疫染色強度は下層のニューロンで強く、脳回ではシナプスの染色に類似した好中球の染色が見られた。心臓の組織片では、心筋炎の徴候は認められなかった。副腎髄質では、一部の細胞がウイルス全体に対する抗体で染色されたが、ネグリ小体や炎症は認められなかった。

電子顕微鏡検査では、ニューロン細胞質内に周囲を顆粒状基質で囲まれた幅70-80nm、長さ150-180nm の弾丸型または不完全な脂質二重膜と結合した狂犬病ウイルス粒子が認められた。横断切片では、スパイクに相当する、膜に包まれた小粒子に囲まれた高密度の中央コア部分が確認された。免疫電子顕微鏡法においては、抗ヌクレオカプシド・ポリクローナル抗体によりウイルス粒子のカプシド周囲の顆粒状基質

が染色された。ニューロンには、粗面小胞体が大量に認められ、小胞体の拡張も認められた。樹状突起内にはウイルス粒子が容易に認められた。ウイルスの出芽中の膜は固定に適していないため、識別不能であった。

キツネ咬傷によるヒト狂犬病症例での前頭部皮質と小脳から分離したウイルスゲノムの配列決定により、狂犬病イヌの脳から分離した狂犬病ウイルスイヌ変異株と93%の相同性がみられ、ヌクレオチド配列の変異はごくわずかだった。狂犬病のイヌに咬まれた狂犬病患者の脳から分離したウイルスゲノムとの相同性は81%であった。

[考察] 本症例は野生の狂犬病キツネから感染したが、臨床症状の進行度や病理学的発現は急速かつ劇的で、潜伏期は比較的短かった。ウイルスを伝播したキツネのその後や、どのようにして感染したかなどの状況は不明である。おそらく狂犬病のイヌが、食物を探して迷い込んでくるキツネやオオカミを攻撃したことが感染の原因と推測される。これは、森林に隣接したインドの村では珍しいことではない。

キツネは生物学的に非常に狂犬病に感染しやすく、潜伏期は4日間から15ヵ月と様々で、平均期間は2-3週間、ウイルス量に反比例することが確認されている。多くのキツネは、連鎖的な感染が可能となる平均 10^{3-4} のウイルスを唾液中に排出する。地理的に離れたヨーロッパのキツネ狂犬病のウイルス変異株は確認されているが、インドでのデータは得られていない。

特定の媒介動物に関連した異なる狂犬病ウイルス変異株は、臨床徴候の違いを引き起こす可能性があることが報告されている。最近のHemachudhaらによる研究において、脳炎型と麻痺型の狂犬病から得られた狂犬病ウイルスの糖蛋白質(G)、核蛋白質(N)、リン蛋白質(P)の遺伝子の分析で、ごくわずかなヌクレオチド差しか認められておらず、狂犬病の臨床症状に関連する狂犬病ウイルスの変異株のみでは説明

できないことが示された。本症例の脳組織から得られたウイルスの遺伝子配列では、イヌ変異株との93%相同性があり、ヌクレオチド配列の変異はごくわずかであった。同一動物種内でも、疾患の発症や進行の時期により遺伝子配列が異なる可能性があるため、確認のためには同一地域内および近隣地域で採取された多くの検体での追跡評価および系統発生樹の作成が重要である。この問題を明らかにすることにより、ヒトおよび経済的に重要な家畜に関連する保有宿主や宿主内でのウイルスの生活環や病原性を解明できると考えられる。

野外ウイルス株による狂犬病感染の自然経過では、中枢神経の神経病理学的変化は軽度である。このことから、狂犬病の罹患あるいは死亡は、神経細胞の死滅よりも神経機能不全が原因と考えられる。しかし、本症例においては小グリア反応および神経細胞貪食が劇的で、重度の脳炎を伴っていた。同様に、ウイルス濃度は高く、ウイルス分布は広範であった。この現象がウイルス株に関連するのか、あるいは、日本脳炎ウイルスがブタの体内で増幅することにより罹患率および死亡率を高めるのと同様、キツネでのウイルス増幅に関連するかは明確になっていない。アルボウイルス感染のように、狂犬病でもサイトカイン/リンホカイン介在性の炎症反応亢進が、血液脳関門の機能を低下させることにより、ウイルスを拡散させ、ウイルスを中枢部位へ到達させている可能性がある。本症例では、心臓が死因とは考えられなかったが、網様体、縫線核、視床部ニューロンの病変に関連していたと考えられる。

カルナタカにおける無作為抽出調査により、キツネの狂犬病はイヌの狂犬病と異なり死亡率が非常に高く、潜伏期が比較的短いことが判明した(私信, Dr. N. Suresh, 動物衛生・獣医生物学研究所前次長, バンガロール)。ヨーロッパでは、キツネの狂犬病は動物狂犬病予防接種計画により根絶されているが、インドでは同様の試みは実施されておらず、地域の動物は感

染の危険にさらされており、地域社会は大きな打撃を被っている。

現在、狂犬病ウイルスの糖蛋白質が、ウイルスの侵入および神経系へのウイルス感染の拡散において非常に重大な影響を及ぼしていることが確認されている。本症例では、糖蛋白質を含む全ウイルス粒子に対する抗体での免疫染色が弱く、狂犬病ウイルスのヌクレオカプシ

ドに対する抗体による染色が強いことから、ウイルスが脳に侵入後、急速に増殖し、解剖学的に連続した広い領域に拡散したことが示唆される。この現象の理解を深めるためには、キツネから感染したウイルス株および病理学的に劇的な脳炎像を来たすが臨床的には麻痺型狂犬病を呈した生物学的特性の解明が必要である。

発症した狂犬病患者の回復例：米国ウィスコンシン州，2004年

(CDC MMWR 2004; 53: 1171-1173)

狂犬病はウイルスによる中枢神経系の感染症で、通常は感染動物による咬傷により罹患し、適切な曝露後発病予防(PEP)を行わなければほぼ全例が死亡する。2004年10月、フォンジュラック郡(ウィスコンシン州)の元来健常だった15歳女性が狂犬病と診断された。女性は、発症の約1ヵ月前にコウモリに咬まれていた。本報告は、ウィスコンシン州公衆衛生局(WDPH)により行われた調査結果、フォンジュラック郡での公衆衛生学的対応、そして12月17日までの患者の臨床経過の概要である。本報告は、曝露前または曝露後に狂犬病ワクチン接種を受けていない患者での狂犬病発症後の回復例としては初めての記録である。

[症例04-3] 女性は9月、教会の礼拝に出席中、コウモリが床に落ちたのを見つけて拾い、外に放した。コウモリを狂犬病の検査のために捕獲しておらず、女性以外はコウモリに接触していない。コウモリを捕まえたとき、女性は左人差し指を咬まれた。創傷は全長約5mmで、出血も認められ、過酸化水素により消毒が行われた。女性は病院を受診しておらず、PEPは実施されなかった。

コウモリ咬傷の約1ヵ月後、女性は疲労と左手の刺痛および麻痺を訴えた。これらの症状は持続し、2日後には身体の不安定を感じるよう

になり、複視が出現した。発症3日目、複視は持続し、患者は悪心・嘔吐を発現したため、小児科医の診察を受け、神経科医に紹介された。その時点で、霧視は持続しており、両側第6神経に不完全麻痺が認められた。造影および非造影の脳MRIおよび磁気共鳴血管造影(MRA)の結果は正常で、患者は帰宅した。

発症4日目、症状は持続しており、腰椎穿刺および支持療法のため現地の病院に入院した。入院時、患者は無熱で見当識もあり、指示に従うこともできた。第6神経節の不完全麻痺、霧視、不安定歩行がみられた。感染制御のための標準予防策は遵守された。腰椎穿刺で、白血球数 $23/\mu\text{L}$ (正常値： $0/\mu\text{L}$)でリンパ球93%、赤血球数 $3/\mu\text{L}$ (正常値： $0/\mu\text{L}$)、蛋白質濃度 50mg/dL (正常値： $15\text{--}45\text{mg/dL}$)、糖 58mg/dL (正常値： $40\text{--}70\text{mg/dL}$)であった。その後36時間のうちに、不明瞭発語、眼振、左腕の振戦、嗜眠の増悪、 38.9°C の発熱がみられた。

発症6日目、コウモリ咬傷の既往が報告され、鑑別診断で狂犬病が考慮された。患者は専門治療病院に転院した。狂犬病の可能性があったため、搬送時には飛沫予防や1対1看護を含む、拡大感染防止策が講じられた。到着時、 38.3°C の発熱、協調運動障害、発語困難、複視、筋肉の攣縮、左腕の振戦がみられた。軽度の意識鈍麻がみられたが、患者は質問に適切に回答し、

指示に従った。

狂犬病検査のため、血清、髄液、項部皮膚検体、唾液をCDCに送付した。造影および非造影のMRI、血管造影/静脈造影はいずれも正常であった。流涎過多が認められ、挿管を行った。患者の血清および髄液に狂犬病ウイルス抗体が検出された。項部皮膚生検検体は直接蛍光抗体染色法でウイルス抗原陰性であり、唾液の細胞培養では狂犬病ウイルスを分離できなかった。両検体とも、逆転写PCR法で狂犬病ウイルスRNAが検出されなかったため、原因の狂犬病ウイルス変異株は同定できなかった。

患者の治療としては、支持療法および薬物による昏睡の誘導と人工呼吸などの脳保護治療が行われた。試験的治療計画として、リバビリンの静脈内投与が行われた。患者は、7日間昏睡状態に保たれた。その間、腰椎穿刺で採取した髄液中の狂犬病IgG抗体が32倍から2,048倍に上昇したことが判明した。昏睡誘導薬を漸減し、患者は次第に覚醒した。発症33日目に抜管を行い、3日後に、リハビリ棟に移された。当初、患者は長期の挿管の影響で話ができなかった。12月17日現在入院中であるが、改善した状態で安定している。患者は介助があれば歩くことができ、8分間、固定自転車をこぐことができ、自分で軟菜や固形食を食べることができる。数学パズルを解き、手まね言語を使い、発語能力は回復している。患者の完全な回復の予後は不明である。

現地および州の衛生局は、住民に狂犬病とその伝播についての正確な情報を提供するため、10月21日に記者会見を行った。生徒たちの狂犬病予防の必要性を評価するため、公衆衛生局職員および地域の小児科医が患者の学校に派遣された。ウィスコンシン州公衆衛生局は、現地の衛生局に対し、医療関係者および患者と接触した住民で感染性の分泌物に曝露された可能性をスクリーニングするための検査ツールを配布した。患者の家族5名、35名の医療関係者のうち5名、55名の地域関係者のうち27名は、

飲食物を介して、あるいは嘔吐後の接触により患者の唾液に曝露されているため、PEPを受けた。専門治療病院の医療従事者は全員、PEPを必要とされなかった。教会の現場検証からは、現在のコウモリ曝露の危険性は判明していない。

編集部注：本症例は、狂犬病を発症したヒトの回復例としては6番目の症例報告である。しかし本件は、発症の前後いずれにも狂犬病ワクチンを受けていない点で、非常に珍しい症例である。歴史的には、過去にワクチン接種を受けていない狂犬病患者の死亡率は100%であった。今までの5例の生還患者は、過去にワクチン接種を受けていたか、あるいは、発症前に何らかのPEPを受けていた。本症例と同様、これらの患者ではウイルス抗原は検出されておらず、ウイルスは分離されていないが、血清と髄液で抗体価の上昇が認められたこと(ワクチン接種のみの場合と矛盾)から、臨床的に狂犬病の診断が確認された。5例の患者のうち、神経系の後遺症なく回復したのは1例のみである。ヒトの狂犬病の治療において、有効性が証明された具体的な治療法はないが、狂犬病ワクチン、狂犬病免疫グロブリン、モノクローナル抗体、リバビリン、インターフェロン・アルファ、ケタミンなどによる併用療法が提案されている。診察時に患者には狂犬病ウイルス中和抗体が確認されていたことから、現在までに治療での有効性がないことが観察されている免疫調節因子(狂犬病ワクチン、狂犬病免疫グロブリン、インターフェロンなど)を使用しないことを決定した。しかし、この患者で使用された療法の個々の有用性は明らかになっていない。

発症1ヵ月前にコウモリ咬傷歴があったことから、コウモリ型狂犬病ウイルス変異株が原因と示唆されている。これは過去20年間の米国でのヒト狂犬病の疫学的パターンと一致している。1980年から2000年の間、米国で患者から得られた狂犬病ウイルス変異株のうち合計26

例(74%)は、食虫コウモリ(ほとんどがギンイロコウモリおよびアメリカトウブアブラコウモリ)の保有するウイルスであり、その中には、2000年にウィスコンシン州で報告された狂犬病の死亡例で得られたウイルス変異株が含まれている。

本症例では、PEPを受けた医療関係者は5人のみである。今までの狂犬病症例の報告では、これより多くの接触者がPEPを受けたと報告されているが、医療関係者の粘膜あるいは開放創が感染性物質(例えば、唾液、涙液、髄液、神経組織)に汚染されなければ、狂犬病患者の治療によりPEPの適応とはならない。感染標準予防策の遵守により、狂犬病曝露の危険性を最小限に抑えることができる。

ヒト狂犬病は、曝露後でも適切な創部管理を行い、発症前に迅速・適切にPEPを行うことにより予防可能である。コウモリ咬傷または擦過傷、あるいは粘膜を通じた曝露があった場合、コウモリが狂犬病検査で陰性と判明しない限り、PEPが推奨される。ヒトとコウモリの直接の接触が起こり、コウモリを検査できない場合は、曝露の可能性が高いのであればPEPを投与すべきである。

しかし現状では、コウモリ咬傷が認識されて

いない、あるいは曝露の重大性が過小評価された場合に、医療機関を受診せず、適切な治療が行われないこともある。一度、狂犬病の臨床徴候が現れた場合、進行性の脳炎が発現し、通常は死に至る。

本報告から、コウモリあるいは他の野生動物と接触後に狂犬病を発症する危険性を最小限に抑えるためには、国民の意識を高める必要があることが明確に示された。狂犬病の可能性のある動物に咬まれた場合はすぐに、1)創部を石鹸と水で十分に洗浄する。2)(直接に接触することなく安全に捕獲できる場合は)動物を捕獲し、提出して検査あるいは検疫を行う。3)現地あるいは州の公衆衛生局に連絡する。4)治療およびPEPの必要性の評価のため医師を受診する。コウモリをペットとして飼育してはならず、また、コウモリを住居および公共の場から駆除しなくてはならない。この患者は回復したものの、狂犬病が発症した場合の治療法は確立しておらず、本症例での回復の理由は不明である。臨床医および一般人は、コウモリとの直接接触による狂犬病感染の危険性を認識すべきであり、本症例の転帰から狂犬病を治癒可能な疾患と考えてはならない。

臓器提供者と移植患者における狂犬病の調査：米国アラバマ州， アーカンソー州，オクラホマ州，テキサス州，2004年

(CDC MMWR 2004; 53: 586-589)

本報告は7月1日にMMWR速報としてMMWRウェブサイト(<http://www.cdc.gov/mmwr>)に掲載された。

2004年6月30日に、CDCは3例の臓器移植患者および共通の臓器提供者で狂犬病の診断を確認した。臓器提供者は移植後に血清学的検査により狂犬病感染が証明された。移植患者は、移植後に病因不明の脳炎に罹患して、死亡した。

検査用検体が診断のためにCDCに送付された。本報告で、進行中の調査の要約および狂犬病曝露の危険と曝露後の処置に関する情報を提供する。

臓器提供者

臓器提供者は、重度の精神状態の変化と微熱のため、テキサス州の2つの病院を受診したアーカンソー州の男性であった。神経学的画像検

査結果は、くも膜下出血に合致した。くも膜下出血は入院後の48時間で急速に拡大し、患者は脳ヘルニアを来たして死亡した。臓器提供者の選定と検査の過程では、移植の禁忌事項は何一つ見られず、患者の家族は臓器提供に同意した。肺、腎臓、および肝臓が摘出された。他の器官ないし組織は摘出されなかった。また、提供者は死亡以前にいかなる血液製剤の投与も受けていなかった。肝臓と腎臓は、5月4日にテキサス州の移植センターで3人の患者に移植された。肺は、アラバマ州の病院で1人の患者に移植されたが、移植患者は手術中の合併症のため死亡した。

肝臓移植患者

[症例04-4] 肝臓移植を受けた患者は末期肝疾患の男性であった。患者は、移植後の経過がよく、手術後5日目に退院して帰宅した。移植の21日後に、患者は振戦、無気力、食欲不振のため再入院した。発熱はみられなかった。患者の神経学的状態は入院後の24時間で急速に悪化し、気管内挿管と集中治療が必要となった。腰椎穿刺では、軽度のリンパ球増多($25/\text{mm}^3$)およびタンパク質の上昇が軽度に見られた。脳の磁気共鳴画像(MRI)検査では髄液で信号増加を示した。患者の神経学的状態は悪化し続けた。入院6日後に、再度検査したMRIではびまん性脳炎が示唆された。その後、患者は死亡した。

女性腎臓移植患者

[症例04-5] 1例目の腎臓移植患者は高血圧と糖尿病に起因する末期腎不全の女性であった。患者は術後合併症もなく、移植手術7日後に退院した。移植25日目後、彼女は右側腹痛のため再入院し、虫垂切除を受けた。切除術の2日後に、患者はび慢性に攣縮を発現し、脱力感が増悪していることに気づいた。コンピュータ断層撮影(CT)とMRIによる神経系の画像検査では異常がみられなかった。その後の24-48時間で、精神状態が悪化し、痙攣発作、低血圧、呼吸不

全を来たして、気管内挿管が必要となった。患者の精神状態は悪化し続け、入院2週間後の脳画像検査では、高度の脳浮腫がみられ、その後患者は死亡した。

男性腎臓移植患者

[症例04-6] 2例目の腎臓移植患者は、巣状糸球体硬化症による末期腎不全の男性であった。患者は移植手術後に移植動脈が一時的に閉塞したため、移植腎の下極に梗塞が生じた。患者は移植12日後に退院した。移植27日後に、患者は病院の救急部を受診して、ミオクローヌス発作と精神状態の変調のため移植センターに移送された。患者は無熱であった。入院時に実施した脳のMRI検査では異常がみられなかった。患者の精神状態は入院後24時間で急速に悪化した。腰椎穿刺では、軽度のリンパ球増多($16/\text{mm}^3$)およびタンパク質の上昇が見られた。精神状態は、悪化し続け、呼吸不全を来たして気管内挿管が必要となった。入院10日後に再度実施したMRI検査ではび慢性脳浮腫がみられた。その後、患者は死亡した。

実験室内検査

CDCで行われた中枢神経系(CNS)の組織病理学的検査で、3例の移植患者すべてでネグリ小体を思わせるウイルス性封入体を有する脳炎であることが判明した。移植患者3名すべてで、狂犬病の診断は免疫組織化学的検査結果および直接蛍光抗体法による固定脳組織での狂犬病ウイルス抗原の検出で確認された。また、一方の腎臓移植患者のCNS組織では、電子顕微鏡検査でラブドウイルスに特有の封入体とウイルス粒子が同定された。

一方の腎臓移植患者の脳組織を頭蓋内および腹腔内に接種された乳のみマウスは、注射の7-9日後に死亡した。これらのマウスのCNS組織の電子顕微鏡検査では、ラブドウイルス粒子が見られ、また免疫組織化学検査で狂犬病ウイルス抗原が検出された。1例の移植患者の脳組

織で実施した抗原性分類では、コウモリに関連した狂犬病ウイルス変異株と矛盾がない結果であった。移植患者3例中2例と臓器提供者の血液で狂犬病ウイルス抗体が認められた。

提供者から狂犬病抗体が検出されたのは、提供者が移植患者への狂犬病感染源であった可能性を示唆している。提供者から採取した他の検体の検査は現在進行中である。

編集部注：狂犬病は、ラブドウイルス科リッサウイルス属の向神経性ウイルスによって引き起こされる急性致死性脳炎である。狂犬病症例の大部分は、狂犬病哺乳動物の咬傷によって引き起こされる。引っ掻き傷、開放創傷の汚染、感染性物質(例えば、狂犬病動物の唾液や神経組織)との直接粘膜接触を含む非咬傷曝露により狂犬病を発症することはまれである。数週間から数ヶ月の潜伏期の後に、狂犬病ウイルスは末梢神経系を通過して中枢神経系に達し、ここで増殖する。次いで、狂犬病ウイルスは神経分布を介して唾液腺や他の器官に拡散する。しかし狂犬病曝露後発病予防(PEP)を受けることにより狂犬病を予防できる。PEPは臨床的徴候が発現する前に開始されれば、狂犬病予防効果が非常に高い。

これまでに、5カ国で8例の角膜移植患者に狂犬病の伝播が発生しているが、本報は、固形臓器移植患者への狂犬病ウイルス伝播が証明された最初の症例について記している。狂犬病ウイルス感染は、狂犬病ウイルスが血行性に広がらないため、移植臓器に含まれた神経組織を介して起こったように思われる。CDCとの共同研究では、アラバマ州、アーカンソー州、オクラホマ州、テキサス州の地方衛生部は、提供者の可能な曝露源を特定して、患者に接触した医療従事者や家庭内での接触者の中でPEPが必要となりうる者を特定するために調査を開始した。

医療行為に関連した狂犬病伝播の危険度は非常に低く、これまで狂犬病患者から医療従事

者への狂犬病ウイルス伝播は記録されていない。患者の血液や体液に触れる際に、標準感染予防策をとれば(接触の程度に応じて、手袋、ガウン、マスク、ゴーグル、フェイス・シールドなどを使用)、狂犬病ウイルスへの曝露は予防できる。家族内接触者間で、狂犬病のヒト-ヒト感染が実験室内検査によって確認された例はない。媒介物や環境表面からの伝播による狂犬病症例はこれまで報告がない。

曝露の可能な経路には、外傷、健全でない皮膚、または粘膜接触による狂犬病ウイルスの皮膚や粘膜からの侵入が含まれる。傷のない皮膚に感染性物質が接触しても、狂犬病ウイルスへの曝露とは考えられない。4例の狂犬病患者のいずれからでも、上記のように、唾液、神経組織、髄液に曝露された人々はPEPを受けるべきである。PEP実施が適切と考えられる家庭環境での曝露は、咬傷、性的活動、口へのキスや他の粘膜と唾液の直接接触、食器やコップ、タバコの共有である。医療関連領域では、他にも気管内挿管、気管分泌物の吸引のような処置、あるいは鋭利な器具による損傷(例えば、針刺しやメスによる切り傷)のような、粘膜や健全でない皮膚への口腔内分泌物の曝露につながる機会がある。皮膚を貫通する負傷(例えば、針刺し)は、神経組織と接触する可能性があるため、曝露と考えられる。患者の体液(例えば、血液、尿、糞)との接触では狂犬病曝露の危険はない。

米国内の臓器提供同意者はすべてが、提供者として感染の危険を有しているか否かを確認するために審査と検査を受けている。臓器移植仲介機構は、臓器提供者に関して、最小限の臓器提供基準に合致するか否かの適性評価に責任を負っている。提供者の適性は、家族や知人への一連の質問と身体検査、および臓器機能障害を知るための血液検査、特定の血液媒介性ウイルスと梅毒に関する血液検査を通して決定する。狂犬病に関する実験室内検査は実施しない。ここに報告した事例では、提供者の死因は

非感染性のものと考えられた。臓器提供者への時間的猶予の役割は、この救命に必須の医療資源の有用性を過度に減少させずに、感染症が伝播される危険性を、合理的に達成可能な最も低いものにするを含めて移植待機患者での移植を最適に実施することである。臓器移植により得られる利益は、検査を受けた提供者から感染する危険性を遙かに上回る。CDC は、提供

者の検査選別の実施方法を再検討すべく連邦政府機関および臓器仲介機関と共に作業を進めている。

狂犬病と狂犬病予防に関する追加情報は CDC で入手可能である。電話404-639-1050または、<http://www.cdc.gov/ncidod/dvrd/>。臓器移植に関する追加情報は <http://www.optn.org/> で入手可能である。

更新版:臓器提供者と移植患者における狂犬病の調査:米国アラバマ州, アーカンソー州, オクラホマ州, テキサス州, 2004年

(CDC MMWR 2004; 53: 615-616)

2004年7月1日, CDC はテキサス州ダラスにあるベイラー大学医療センター (BUMC) で, 臓器提供者と3例の臓器移植患者が発症した脳炎の原因が狂犬病であり, これを実験室内検査で確定したことを発表した。アラバマ州, アーカンソー州, オクラホマ州とテキサス州の病院と公衆衛生当局は, 臓器提供者および移植患者との接触者を同定し, 曝露危険度の評価や曝露後発症予防(PEP)の実施を検討する公衆衛生調査を開始した。7月9日までに, PEP は臓器提供者および移植患者と接触があったと考えられた916例中, 174例(約19%)で開始された。この調査の結果, アーカンソー州保健省は, 臓器提供者にコウモリ咬傷歴があったことを報告した(フランク・ウィルソン, M. D., アーカンソー州保健省, 私信, 2004)。

[症例04-7] 7月7日, CDC はBUMCにおいて, 6月上旬に原因不明の脳症で死亡した臓器移植患者の追加報告を受けた。この症例は, 現在行われている臓器移植患者の剖検例の調査で発見された。患者は末期の肝不全で, 2004年5月初旬に BUMC で肝移植を受けた。患者は移植関連の合併症で入院が続いていたが, 6月初旬に神経学的異常を発現し, 痙攣が認められた後, 昏睡から死に至った。7月7日, BUMC の病理医は,

狂犬病を疑わせる細胞質内封入体を脳内の複数個所で確認した。

臓器移植患者からの検体は, 7月7日に CDC に送られた。検体の直接蛍光抗体染色や免疫組織化学的染色を行ったところ, 海馬, 中脳, 橋, 延髄, 小脳など脳の複数個所で狂犬病ウイルス抗原が確認された。これまで狂犬病を発症した3例の臓器移植患者と同様, 抗原の特性評価の一次検査では, 食虫コウモリに関連する狂犬病ウイルスの変異株と一致した。7月8日, CDC の調査では, 肝臓を提供した患者の組織や血清から狂犬病ウイルス感染を疑わせる所見は認められなかった。

BUMC で行われた手術の再調査で, のちに狂犬病と確定した臓器提供者からの腸骨動脈の一部が, 将来の肝移植での使用のために施設に保管されていたことが判明した。この動脈の一部は, 最後に狂犬病を発症した臓器移植患者の肝移植の際に使用されていた。狂犬病の感染原因を特定する調査は現在行われているが, 現在の証拠に基づくと, 狂犬病に感染した臓器提供者の動脈が感染原因となった可能性が高い。この臓器移植患者との接触歴があった者の調査, および PEP の開始の検討は現在進行中である。

旅行に伴うオーストリア人男性の狂犬病

(Kraus R et al. Emerg Infect Dis 2005; 11: 719-721)

オーストリア人男性がモロッコのアガディアでイヌに咬まれた後、狂犬病を発症した。逆転写ポリメラーゼ連鎖反応(RT-PCR)と免疫組織化学検査によって診断が確定した。患者の女友達も同じイヌに咬まれたが発症しなかった。

狂犬病は、急性かつ進行性の脳髄膜炎で最終的には死に至るが、ワクチン接種によって死亡を防ぐことが可能である。ほとんどの伝播は感染動物からの咬傷によって起こり、現在でもアフリカおよびアジアの多くの国では狂犬病は公衆衛生上の問題である。また、狂犬病常在地域において、キャンプなど長時間にわたり保護なしで屋外にいる旅行者も危険度が高いと言える。本稿では、モロッコのアガディアで受けたイヌ咬傷に関連するオーストリア人男性の狂犬病症例を報告する。

[症例05-1] 2004年5月、2人のオーストリア人観光客(23歳男性および21歳女性)がモロッコに渡航した。7月末、2人はモロッコ国内のアガディアに滞在しており、同地のビーチで子イヌと遊んだ。うち1匹が攻撃的で、女性の右手薬指を咬み、彼女を助けようとした男性も右手と右脚を咬まれた。その後、特に治療を受けることのないまま傷は癒え、2人は医療機関を受診しなかった。咬傷から3日後、咬んだ子イヌは死亡し、2人によって埋葬された。4週間後、男性は最高で39°Cの発熱、倦怠感、口中の異常な乾き、嚥下困難といった症状を呈した。2日後、男性はアフリカ大陸のスペイン領地であるセウタの病院に入院した。入院後は次第に恐水症、恐風症、錯乱、唾液分泌量の増大が見られた。続いて過換気、血圧低下(85/45 mmHg)、頻脈(150/分)、全身の震えを認めた。

患者は集中治療室に移送され、挿管と人工呼

吸を受けた。低血圧および肺炎を発症していたことから輸液、ドーパミン、アンピシリン、セフトキシム、バンコマイシンによる治療が行われた。患者の行動歴から狂犬病が示唆されたため、患者と女友達(彼女は健康であった)は狂犬病ワクチンおよびヒト狂犬病免疫グロブリン(臀部に20 IU/kg 筋注)が投与された。セウタの病院に入院3日後、患者は医療航空機でオーストリア・グラーツ医科大学の集中治療室に移送された。集中治療室では、バンコマイシンとセフトキシムによる肺炎治療が行われたほか、転院前から行われていた0-3-7-14-28日接種方式による狂犬病ワクチン(独マールブルクのカイロン社製 Rabipur)が続行された。レミフェンタニルおよびミダゾラムに加えてケタミンが投与された。最近の推奨に従い、リバビリンおよびインターフェロン α は使用しなかった。頸部および髄液、咽頭スワブ、鼻腔スワブ、血清の検体は、オーストリアのメートリンクに設けられた同国の狂犬病レファレンスラボラトリーである動物疾患予防研究所(オーストリア健康・食品安全当局内)、ならびに米国ジョージア州アトランタの疾病予防管理センター(CDC)に送られた。

RT-PCR 検査の結果、皮膚生検検体および咽頭スワブが狂犬病陽性であり、増幅された狂犬病ウイルス蛋白遺伝子 DNA(965-bp と 300-bp)は、モロッコで採取された別の狂犬病ウイルス株(GenBank accession no. U22852, U22642, AY062090, U22631)ときわめて近縁であった。加えて、頸部生検検体の蛍光抗体試験および免疫組織化学検査も陽性であった(図:省略)。セウタの病院から患者の検体の送付を受けていたマドリッドのカルロス III 世保健研究所内、スペイン国立微生物学研究所の結果も同様であった。発症から4日後および20日後に実施した血