別紙様式第2-1

No. 9

医薬品 研究報告 調査報告書

識別番号・報告回数			報告日	第一報入手日	新医薬品等の区分	総合機構処理欄
				2009. 6. 5	該当なし	
一般的名称	人血清アルブミン		研究報告の公表状況	Briese T, Paweska JT, McMullan LK, Hutchison SK, Street C, Palacios G, Khristova ML, Weyer J, Swanepoel R, Egholm M, Nichol ST, Lipkin WI. PLoS Pathog. 2009 May;5(5):e1000455. Epub 2009 May 29.	公表国 米国	
販売名(企業名)	赤十字アルブミン20(日本赤十字社) 赤十字アルブミン25(日本赤十字社) 赤十字アルブミン20%静注4g/20mL(日本赤十字社) 赤十字アルブミン20%静注10g/50mL(日本赤十字社) 赤十字アルブミン25%静注12.5g/50mL(日本赤十字社)					

研究報告の概要

○アフリカ南部で発見された新規出血熱関連アレナウイルス、Lujoウイルスの遺伝子検出と特徴

Lujoウイルス(LUJV)はアレナウイルス科の新たなウイルスで、過去30年間で初めて発見された出血熱関連旧世界アレナウイルスである。LUJVは南アフリカにおけるヒト疾患のアウトブレイク中に分離され、院内感染とこれまでにない高い死亡率(4/5例、80%)が特徴である。アウトブレイクの死亡患者から採取した血漿及び組織由来のRNA抽出物の無作為パイロシークエンスにより、検体受領から72時間以内で同定と詳細な系統発生学的特徴の分析ができた。LUJVの全ゲノム分析では、かなり昔に旧世界アレナウイルスから分岐して独特の配列を持っていることが判明した。ウイルスのG1糖タンパク質シークエンスは、他の旧世界/新世界アレナウイルスとは大きく異なって両者のほぼ中間に位置し、特徴的なレセプター親和性を持っていた。LUJVは系統的に独立した新しい高病原性アレナウイルスである。

使用上の注意記載状況・その他参考事項等

赤十字アルブミン20
赤十字アルブミン25
赤十字アルブミン20%静注4g/20mL
赤十字アルブミン20%静注10g/50mL
赤十字アルブミン25%静注12.5g/50mL

血液を原料とすることに由来する感染症伝播等

報告企業の意見	今後の対応
南アフリカにおいて、系統的に独立した新しい高病原性アレナウイルスのLujoウイルスが検出されたとの報告である。 アレナウイルスは脂質膜を持つ比較的大型のRNAウイルスである。これまで、本剤によるアレナウイルス感染の報告はない。本剤の製造工程には、平成11年8月30日付医薬発第1047号に沿ったウイルス・プロセスバリデーションによって検証された2つの異なるウイルス除去・不活化工程が含まれていることから、本剤の安全性は確保されていると考える。	念のため今後も情報収集に努める。なお、日本赤十字社では帰国(入国)後4週間は献血不適とし、輸入感染症の防止に努めている。

(14)

JRC2009T-031

PLoS PATHOGENS

OPEN ACCESS Freely available online

Genetic Detection and Characterization of Lujo Virus, a New Hemorrhagic Fever–Associated Arenavirus from Southern Africa

Thomas Briese[1☯], Janusz T. Paweska[2,3], Laura K. McMullan[3], Stephen K. Hutchison[4], Craig Street[1], Gustavo Palacios[1], Marina L. Khristova[5], Jacqueline Weyer[2], Robert Swanepoel[2], Michael Egholm[4], Stuart T. Nichol[3], W. Ian Lipkin[1*]

1 Center for Infection and Immunity, Mailman School of Public Health, Columbia University, New York, New York, United States of America, 2 Special Pathogens Unit, National Institute for Communicable Diseases of the National Health Laboratory Service, Sandringham, South Africa, 3 Special Pathogens Branch, Division of Viral and Rickettsial Diseases, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, United States of America, 4 454 Life Sciences, Branford, Connecticut, United States of America, 5 Biotechnology Core Facility Branch, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, United States of America

Abstract

Lujo virus (LUJV), a new member of the family *Arenaviridae* and the first hemorrhagic fever–associated arenavirus from the Old World discovered in three decades, was isolated in South Africa during an outbreak of human disease characterized by nosocomial transmission and an unprecedented high case fatality rate of 80% (4/5 cases). Unbiased pyrosequencing of RNA extracts from serum and tissues of outbreak victims enabled identification and detailed phylogenetic characterization within 72 hours of sample receipt. Full genome analyses of LUJV showed it to be unique and branching off the ancestral node of the Old World and New World arenaviruses. The virus G1 glycoprotein sequence was highly diverse and almost equidistant from that of other Old World and New World arenaviruses, consistent with a potential distinctive receptor tropism. LUJV is a novel, genetically distinct, highly pathogenic arenavirus.

Citation: Briese T, Paweska JT, McMullan LK, Hutchison SK, Street C, et al. (2009) Genetic Detection and Characterization of Lujo Virus, a New Hemorrhagic Fever–Associated Arenavirus from Southern Africa. PLoS Pathog 4(5): e1000455. doi:10.1371/journal.ppat.1000455

Editor: Michael J. Buchmeier, University of California Irvine, United States of America

Received February 23, 2009; **Accepted** April 28, 2009; **Published** May 29, 2009

Funding: This work was supported by Google.org and National Institutes of Health awards AI057292 and AI57158 (Northeast Biodefense Center - Lipkin). The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing Interests: SKH and ME are employees of 454 Life Sciences, Inc., a Roche Company.

* E-mail: thomas.briese@columbia.edu (TB); wil2001@columbia.edu (WIL)

☯ These authors contributed equally to this work.

Introduction

Members of the genus *Arenavirus*, comprising currently 22 recognized species (http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp?version=2008), are divided into two complexes based on serologic, genetic, and geographic relationships [1,2]: the New World (NW) or Tacaribe complex, and the Old World (OW) or Lassa-Lymphocytic choriomeningitis complex that includes the ubiquitous arenavirus type-species *Lymphocytic choriomeningitis virus* (LCMV; [3]). The RNA genome of arenaviruses is bi-segmented, comprising a large (L) and a small (S) segment that each codes for two proteins in ambisense coding strategy [4,5]. Despite this coding strategy, the *Arenaviridae* are classified together with the families *Orthomyxoviridae* and *Bunyaviridae* as segmented single-strand, negative sense RNA viruses.

The South American hemorrhagic fever viruses Junin (JUNV; [6,7]), Machupo (MACV; [8]), Guanarito (GTOV; [9]) and Sabia virus (SABV, [10]), and the African Lassa virus (LASV [11]), are restricted to biosafety level 4 (BSL-4) containment due to their associated aerosol infectivity and rapid onset of severe disease. With the possible exception of NW Tacaribe virus (TCRV; [12]), which has been isolated from bats (*Artibeus* spp.), individual arenavirus species are commonly transmitted by specific rodent species wherein the capacity for persistent infection without overt disease suggests long evolutionary adaptation between the agent and its host [1,13–16]. Whereas NW arenaviruses are associated with rodents in the *Sigmodontinae* subfamily of the family *Cricetidae*, OW arenaviruses are associated with rodents in the *Murinae* subfamily of the family *Muridae*.

Humans are most frequently infected through contact with infected rodent excreta, commonly via inhalation of dust or aerosolized virus-containing materials, or ingestion of contaminated foods [13]; however, transmission may also occur by inoculation with infected body fluids and tissue transplantation [17–19]. LCMV, which is spread by the ubiquitous *Mus musculus* as host species and hence found world-wide, causes symptoms in humans that range from asymptomatic infection or mild febrile illness to meningitis and encephalitis [13]. LCMV infection is only rarely fatal in immunocompetent adults; however, infection during pregnancy bears serious risks for mother and child and frequently results in congenital abnormalities. The African LASV, which has its reservoir in rodent species of the *Mastomys* genus, causes an estimated 100,000–500,000 human infections per year in West African countries (Figure 1). Although Lassa fever is typically subclinical or associated with mild febrile illness, up to 20% of cases may have severe systemic disease culminating in fatal outcome [20,21]. Three other African arenaviruses are not known to cause human disease: Ippy virus (IPPYV; [22,23]), isolated from

Author Summary

In September and October 2008, five cases of undiagnosed hemorrhagic fever, four of them fatal, were recognized in South Africa after air transfer of a critically ill index case from Zambia. Serum and tissue samples from victims were subjected to unbiased pyrosequencing, yielding within 72 hours of sample receipt, multiple discrete sequence fragments that represented approximately 50% of a prototypic arenavirus genome. Thereafter, full genome sequence was generated by PCR amplification of intervening fragments using specific primers complementary to sequence obtained by pyrosequencing and a universal primer targeting the conserved arenaviral termini. Phylogenetic analyses confirmed the presence of a new member of the family *Arenaviridae*, provisionally named Lujo virus (LUJV) in recognition of its geographic origin (Lusaka, Zambia, and Johannesburg, South Africa). Our findings enable the development of specific reagents to further investigate the reservoir, geographic distribution, and unusual pathogenicity of LUJV, and confirm the utility of unbiased high throughput pyrosequencing for pathogen discovery and public health.

Arvicanthis spp. and Mobala virus (MOBV; [24]) isolated from *Praomys* spp. in the Central African Republic (CAR); and Mopeia virus (MOPV) that like LASV is associated with members of the genus *Mastomys*, and was reported from Mozambique [25] and Zimbabwe [26], although antibody studies suggest that MOPV and LASV may also circulate in CAR [27] where the geographies of these viruses appear to overlap (Figure 1). Up to present, there have been no published reports of severe human disease associated with arenaviruses isolated from southern Africa.

In September 2008 an outbreak of unexplained hemorrhagic fever was reported in South Africa [28]. The index patient was airlifted in critical condition from Zambia on September 12 to a clinic in Sandton, South Africa, after infection from an unidentified source. Secondary infections were recognized in a paramedic (case 2) who attended the index case during air transfer from Zambia, in a nurse (case 3) who attended the index case in the intensive care unit in South Africa, and in a member of the hospital staff (case 4) who cleaned the room after the index case died on September 14. One case of tertiary infection was recorded in a nurse (case 5) who attended case 2 after his transfer from Zambia to Sandton on September 26, one day before barrier nursing was implemented. The course of disease in cases 1 through 4 was fatal; case 5 received ribavirin treatment and recovered. A detailed description of clinical and epidemiologic data, as well as immunohistological and PCR analyses that indicated the presence of an arenavirus, are reported in a parallel communication (Paweska et al., Emerg. Inf. Dis., submitted). Here we report detailed genetic analysis of this novel arenavirus.

Results/Discussion

Rapid identification of a novel pathogen through unbiased pyrosequencing

RNA extracts from two post-mortem liver biopsies (cases 2 and 3) and one serum sample (case 2) were independently submitted for unbiased high-throughput pyrosequencing. The libraries yielded between 87,500 and 106,500 sequence reads. Alignment of unique singleton and assembled contiguous sequences to the GenBank database (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank) using the Basic Local Alignment Search Tool (blastn and blastx; [29]) indicated coverage of approximately 5.6 kilobases (kb) of sequence distributed along arenavirus genome scaffolds: 2 kb of S segment sequence in two fragments, and 3.6 kb of L segment sequence in 7 fragments (Figure 2). The majority of arenavirus sequences were obtained from serum rather than tissue, potentially reflecting lower levels of competing cellular RNA in random amplification reactions.

Full genome characterization of a newly identified arenavirus

Sequence gaps between the aligned fragments were rapidly filled by specific PCR amplification with primers designed on the pyrosequence data at both, CU and CDC. Terminal sequences were added by PCR using a universal arenavirus primer, targeting the conserved viral termini (5′-CGC ACM GDG GAT CCT AGG C, modified from [30]) combined with 4 specific primers positioned near the ends of the 2 genome segments. Overlapping primer sets based on the draft genome were synthesized to facilitate sequence validation by conventional dideoxy sequencing. The accumulated data revealed a classical arenavirus genome structure with a bi-segmented genome encoding in an ambisense strategy two open reading frames (ORF) separated by an intergenic stem-loop region on each segment (Figure 2) (GenBank Accession numbers FJ952384 and FJ952385).

Our data represent genome sequences directly obtained from liver biopsy and serum (case 2), and from cell culture isolates obtained from blood at CDC (case 1 and 2), and from liver biopsies at NICD (case 2 and 3). No sequence differences were uncovered between virus detected in primary clinical material and virus isolated in cell culture at the two facilities. In addition, no changes were detected between each of the viruses derived from these first three cases. This lack of sequence variation is consistent with the epidemiologic data, indicating an initial natural exposure of the index case, followed by a chain of nosocomial transmission among subsequent cases.

Lujo virus (LUJV) is a novel arenavirus

Phylogenetic trees constructed from full L or S segment nucleotide sequence show LUJV branching off the root of the OW arenaviruses, and suggest it represents a highly novel genetic lineage, very distinct from previously characterized virus species and clearly separate from the LCMV lineage (Figure 3A and 3B). No evidence of genome segment reassortment is found, given the identical placement of LUJV relative to the other OW arenaviruses based on S and L segment nucleotide sequences. In addition, phylogenetic analysis of each of the individual ORFs reveals similar phylogenetic tree topologies. A phylogenetic tree constructed from deduced L-polymerase amino acid (aa) sequence also shows LUJV near the root of the OW arenaviruses, distinct from characterized species, and separate from the LCMV branch (Figure 3C). A distant relationship to OW arenaviruses may also be inferred from the analysis of Z protein sequence (Figure S1). The NP gene sequence of LUJV differs from other arenaviruses from 36% (IPPYV) to 43% (TAMV) at the nucleotide level, and from 41% (MOBV/LASV) to 55% (TAMV) at the aa level (Table S1). This degree of divergence is considerably higher than both, proposed cut-off values within (<10–12%), or between (>21.5%) OW arenavirus species [31,32], and indicates a unique phylogenitic position for LUJV (Figure 3D). Historically, phylogenetic assignments of arenaviruses have been based on portions of the NP gene [1,33], because this is the region for which most sequences are known. However, as more genomic sequences have become available, analyses of full-length GPC sequence have revealed evidence of possible relationships between OW and NW

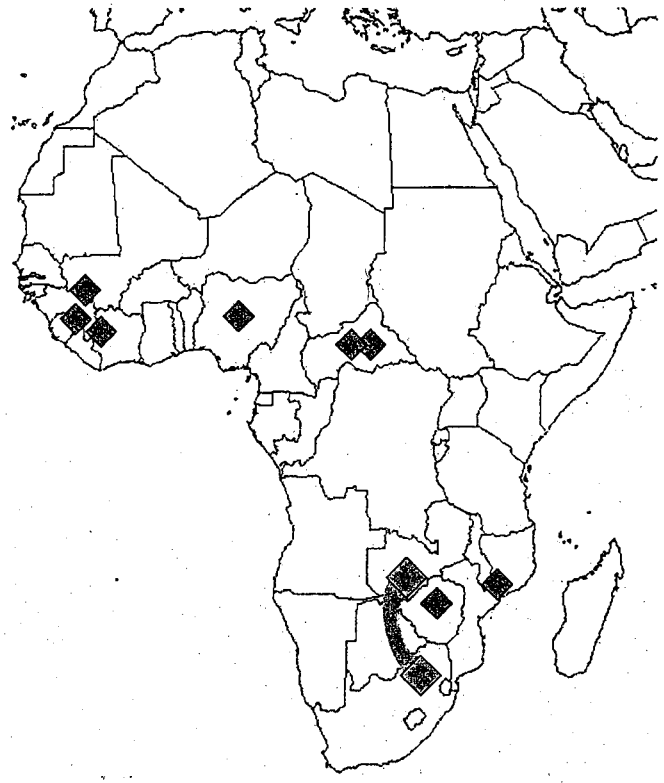

Figure 1. Geographic distribution of African arenaviruses. MOBV, MOPV, and IPPYV (blue) have not been implicated in human disease; LASV (red) can cause hemorrhagic fever. The origin of the LUJV index and secondary and tertiary cases linked in the 2008 outbreak are indicated in gold.
doi:10.1371/journal.ppat.1000455.g001

arenaviruses not revealed by NP sequence alone [34]. Because G1 sequences are difficult to align some have pursued phylogenetic analyses by combining the GPC signal peptide and the G2 sequence for phylogenetic analysis [16]. We included in our analysis the chimeric signal/G2 sequence (Figure 3E) as well as the receptor binding G1 portion (Figure 3F); both analyses highlighted the novelty of LUJV, showing an almost similar distance from OW as from NW viruses.

Protein motifs potentially relevant to LUJV biology

Canonical polymerase domains pre-A, A, B, C, D, and E [35–37] are well conserved in the L ORF of LUJV (256 kDa, pI = 6.4; Figure 4). The Z ORF (10.5 kDa, pI = 9.3) contains two late domain motifs like LASV; however, in place of the PTAP motif found in LASV, that mediates recognition of the tumor susceptibility gene 101, Tsg101 [38], involved in vacuolar protein sorting [39,40], LUJV has a unique Y_{77}REL motif that matches the YXXL motif of the retrovirus equine infectious anemia virus [41], which interacts with the clathrin adaptor protein 2 (AP2) complex [42]. A Tsg101-interacting motif, P_{90}SAP, is found in LUJV in position of the second late domain of LASV, PPPY, which acts as a Nedd4-like ubiquitin ligase recognition motif [43]. The RING motif, containing conserved residue W_{44} [44], and the conserved myristoylation site G_2 are present [45–47] (Figure 4). The NP of LUJV (63.1 kDa, pI = 9.0) contains described aa motifs that resemble mostly OW arenaviruses [48], including a cytotoxic T-lymphocyte (CTL) epitope reported in LCMV (GVYMGNL; [49]), corresponding to G_{122}VYRGNL in LUJV, and a potential antigenic site reported in the N-terminal portion of LASV NP (RKSKRND; [50]), corresponding to R_{55}KDKRND in LUJV (Figure 4).

The GPC precursor (52.3 kDa, pI = 9.0) is cotranslationally cleaved into the long, stable signal peptide and the mature glycoproteins G1 and G2 [51–54]. Based on analogy to LASV [55] and LCMV [56], signalase would be predicted to cleave between D_{58} and S_{59} in LUJV. However, aspartate and arginine

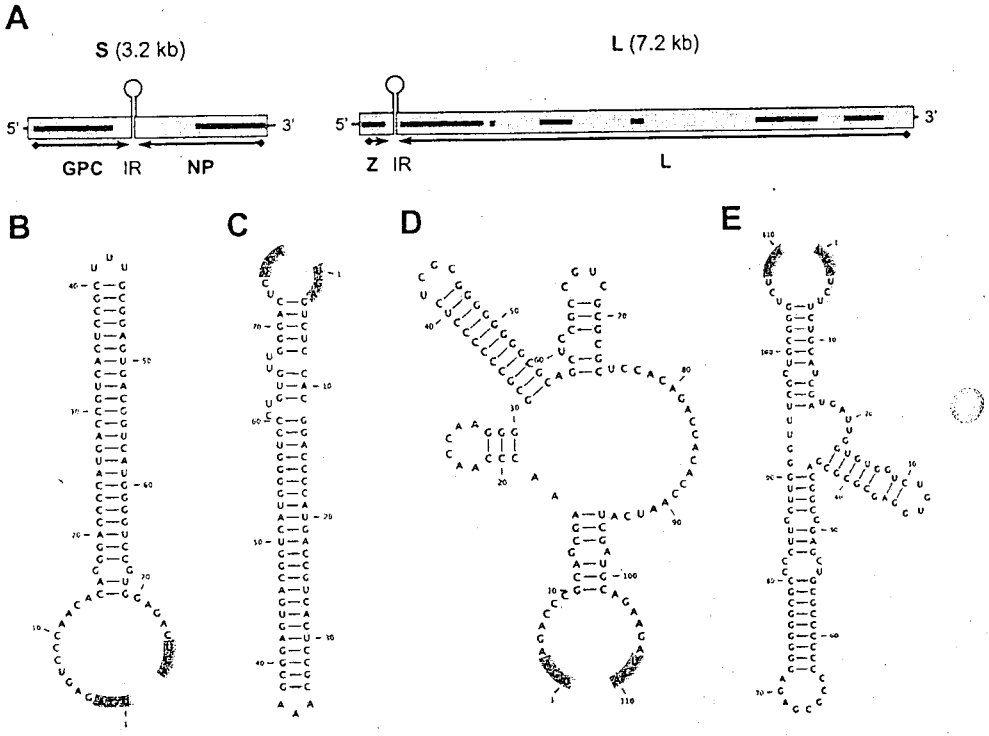

Figure 2. LUJV genome organization and potential secondary structure of intergenic regions. Open reading frames (ORF) for the glycoprotein precursor GPC, the nucleoprotein NP, the matrix protein analog Z, and the polymerase L, and their orientation are indicated (A); blue bars represent sequences obtained by pyrosequencing from clinical samples. Secondary structure predictions of intergenic regions (IR) for S (B, C) and L segment sequence (D, E) in genomic (B, D) and antigenomic orientation (C, E) were analyzed by mfold; shading indicates the respective termination codon (opal, position 1), and its reverse-complement, respectively.
doi:10.1371/journal.ppat.1000455.g002

residues in the −1 and −3 positions, respectively, violate the (−3,−1)-rule [57]; thus, cleavage may occur between S_{59} and S_{60} as predicted by the SignalP algorithm. The putative 59 aa signal peptide of LUJV displays a conserved G_2, implicated in myristoylation in JUNV [58], however, it is followed in LUJV by a non-standard valine residue in position +4, resembling non-standard glycine residues found in Oliveros virus (OLVV [59]) and Latino virus (LATV; http://www2.ncid.cdc.gov/arbocat/catalog-listing.asp?VirusID = 263&SI = 1). Conservation is also observed for aa residues P_{12} (except Amapari virus; AMAV [60]), E_{17} [61](except Pirital virus; PIRV [62]), and N_{20} in hydrophobic domain 1, as well as I_{32}KGVFNLYK$_{40}$SG, identified as a CTL epitope in LCMV WE (I_{32}KAVYNFATCG; [63]) (Figure 4).

Analogous to other arenaviruses, SKI-1/S1P cleavage C-terminal of $RKLM_{221}$ is predicted to separate mature G1 (162 aa, 18.9 kDa, pI = 6.4) from G2 (233 aa, 26.8 kDa, pI = 9.5) [52,53,64]. G2 appears overall well conserved, including the strictly conserved cysteine residues: 6 in the luminal domain, and 3 in the cytoplasmic tail that are included in a conserved zinc finger motif reported in JUNV [65] (Figure 4). G2 contains 6 potential glycosylation sites, including 2 strictly conserved sites, 2 semi-conserved sites N_{335} (absent in LCMVs and Dandenong virus; DANV [19]) and N_{352} (absent in LATV), and 2 unique sites in the predicted cytoplasmic tail (Figure 4). G1 is poorly conserved among arenaviruses [16], and G1 of LUJV is no exception, being highly divergent from the G1 of the other arenaviruses, and shorter than that of other arenaviruses. LUJV G1 contains 6 potential glycosylation sites in positions comparable to other arenaviruses, including a conserved site N_{93}HS (Figure 4), which is shifted by one aa in a motif that otherwise aligns well with OW arenaviruses and NW arenavirus clade A and C viruses. There is no discernable homology to other arenavirus G1 sequences that would point to usage of one of the two identified arenavirus receptors; Alpha-dystroglycan (α-DG) [66] that binds OW arenaviruses LASV and LCMV, and NW clade C viruses OLVV and LATV [67], or transferrin receptor 1 (TfR1) that binds pathogenic NW arenaviruses JUNV, MACV, GTOV, and SABV [68] (Figure S2).

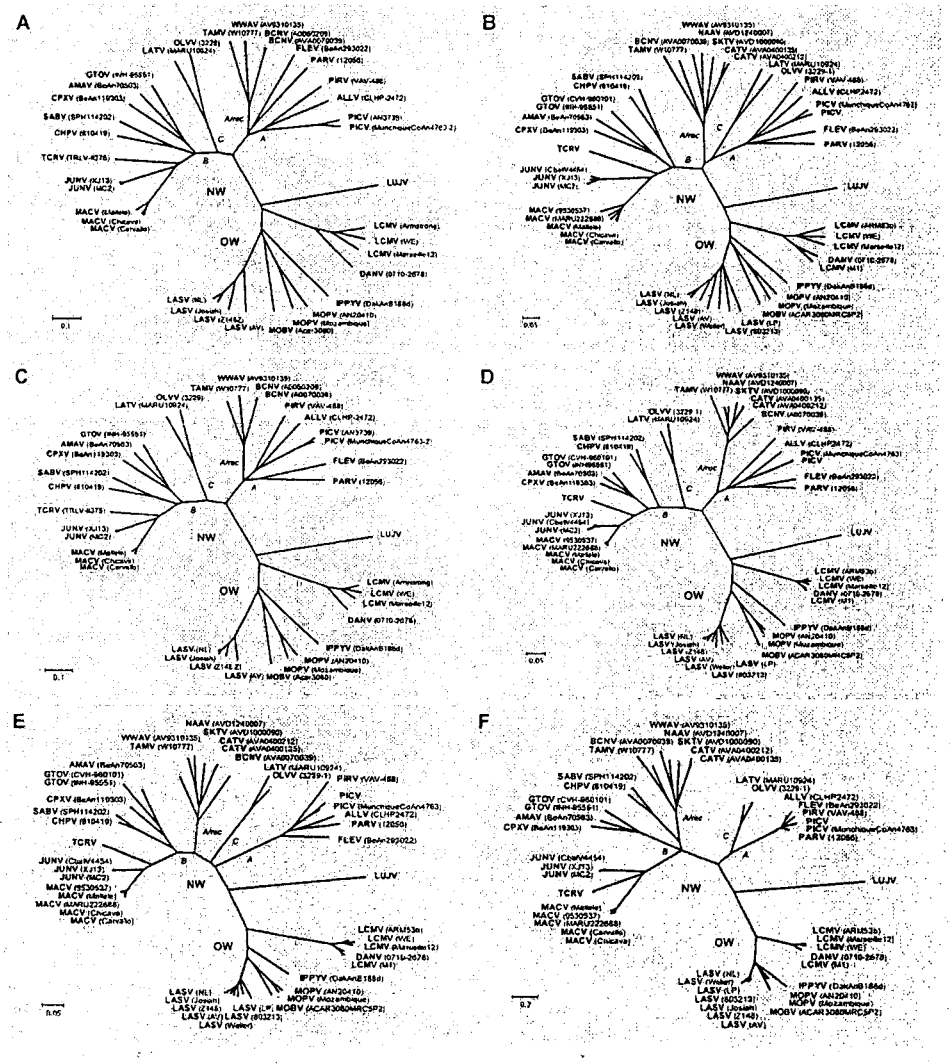

Figure 3. Phylogenetic analyses of LUJV. Phylogenetic relationships of LUJV were inferred based on full L (A) and S segment nucleotide sequence (B), as well as on deduced amino acid sequences of L (C), NP (D), Signal/G2 (E) and G1 (F) ORF's. Phylogenies were reconstructed by neighbor-joining analysis applying a Jukes-Cantor model; the scale bar indicates substitutions per site; robust boostrap support for the positioning of LUJV was obtained in all cases (>98% of 1000 pseudoreplicates). GenBank Accession numbers for reference sequences are: ALLV CLHP2472 (AY216502, AY012687); AMAV BeAn70563 (AF512834); BCNV AVA0070039 (AY924390, AY922491), A0060209 (AY216503); CATV AVA0400135 (DQ865244), AVA0400212 (DQ865245); CHPV 810419 (EU, 260464, EU260463); CPXV BeAn119303 (AY216519, AF512832); DANV 0710-2678 (EU136039, EU136038); FLEV BeAn293022 (EU627611, AF512831); GTOV INH-95551 (AY358024, AF485258), CVH-960101 (AY497548); IPPYV DakAnB188d (DQ328878, DQ328872); JUNV MC2 (AY216507, D10072), XJ13 (AY358022, AY358023), CbalV4454 (DQ272266); LASV LP (AF181853), 803213 (AF181854), Weller (AY628206), AV (AY179171, AF246121), Z148 (AY628204, AY628205), Josiah (U73034, J043204), NL (AY179172, AY179173); LATV MARU10924 (EU627612, AF485259); LCMV Armstrong (AY847351), ARM53b (M20869), WE (AF004519, M22138), Marseille12 (DQ286932, DQ286931), M1 (AB261991); MACV Carvallo (AY619642, AY619643), Chicava (AY624354, AY624355), Mallele (AY619644, AY619645), MARU222688

(AY922407), 9S30537 (AY571959); MOBV ACAR3080MRC5P2 (DQ328876, AY342390); MOPV AN20410 (AY772169, AY772170), Mozambique (DQ328875, DQ328874); NAAV AVD1240007 (EU123329); OLVV 3229-1 (AY216514, U34248); PARV 12056 (EU627613, AF485261); PICV (K02734), MunchiqueCoAn4763 (EF529745, EF529744), AN3739 (AF427517); PIRV VAV-488 (AY216505, AF277659); SABV SPH114202 (AY358026, U41071); SKTV AVD1000090 (EU123328); TAMV W10777 (EU627614, AF512828); TCRV (J04340, M20304); WWAV AV9310135 (AY924395, AF228063).
doi:10.1371/journal.ppat.1000455.g003

In summary, our analysis of the LUJV genome shows a novel virus that is only distantly related to known arenaviruses. Sequence divergence is evident across the whole genome, but is most pronounced in the G1 protein encoded by the S segment, a region implicated in receptor interactions. Reassortment of S and L segments leading to changes in pathogenicity has been described in cultured cells infected with different LCMV strains [69], and between pathogenic LASV and nonpathogenic MOPV [70]. We find no evidence to support reassortment of the LUJV L or S genome segment (Figure 3A and 3B). Recombination of glycoprotein sequence has been recognized in NW arenaviruses [14,16,33,34,71–73], resulting in the division of the complex into four sublineages: lineages A, B, C, and an A/recombinant lineage that forms a branch of lineage A when NP and L sequence is considered (see Figure 3C and 3D), but forms an independent branch in between lineages B and C when glycoprotein sequence is considered (see Figure 3D). While recombination cannot be excluded in case of LUJV, our review of existing databases reveals no candidate donor for the divergent GPC sequence. To our knowledge is LUJV the first hemorrhagic fever-associated arenavirus from Africa identified in the past 3 decades. It is also the first such virus originating south of the equator (Figure 1). The International Committee on the Taxonomy of Viruses (ICTV) defines species within the *Arenavirus* genus based on association with a specific host, geographic distribution, potential to cause human disease, antigenic cross reactivity, and protein sequence similarity to other species. By these criteria, given the novelty of its presence in southern Africa, capacity to cause hemorrhagic fever, and its genetic distinction, LUJV appears to be a new species.

Materials and Methods

Sequencing

Clinical specimens were inactivated in TRIzol (liver tissue, 100 mg) or TRIzol LS (serum, 250 µl) reagent (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) prior to removal from BSL-4 containment. Total RNA extracts were treated with DNase I (DNA-free, Ambion, Austin, TX, USA) and cDNA generated by using the Superscript II system (Invitrogen) and 100–500 ng RNA for reverse transcription primed with random octamers that were linked to an arbitrary, defined 17-mer primer sequence [74]. The resulting cDNA was treated with RNase H and then randomly amplified by the polymerase chain reaction (PCR; [75]); applying a 9:1 mixture of a primer corresponding to the defined 17-mer sequence, and the random octamer-linked 17-mer primer, respectively [74]. Products >70 base pairs (bp) were selected by column purification (MinElute, Qiagen, Hilden, Germany) and ligated to specific linkers for sequencing on the 454 Genome Sequencer FLX (454 Life Sciences, Branford, CT, USA) without fragmentation of the cDNA [19,76,77]). Removal of primer sequences, redundancy filtering,

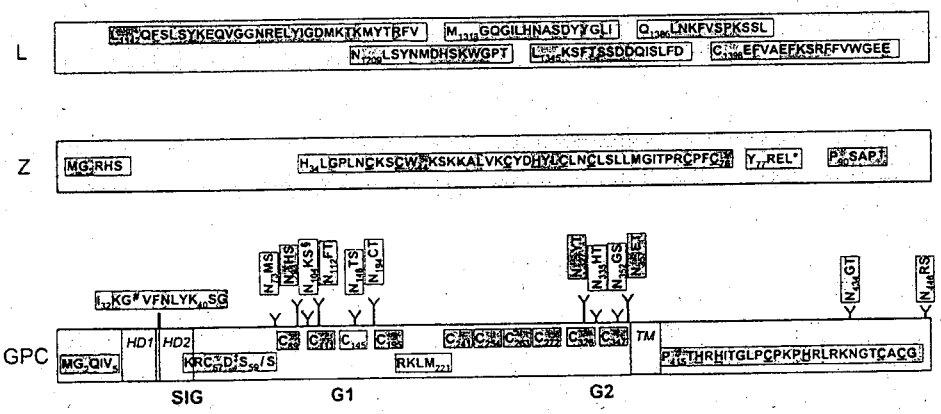

Figure 4. Schematic of conserved protein motifs. Conservation of LUJV amino acid motifs with respect to all other (green highlight), to OW (yellow highlight), or to NW (blue highlight) arenaviruses is indicated; grey highlight indicates features unique to LUJV. Polymerase motifs pre-A (L_{1142}), A (N_{1209}), B (M_{1313}), C (L_{1345}), D (Q_{1386}), and E (C_{1398}) are indicated for the L ORF; potential myristoylation site G_2, the RING motif H_{34}/C_{76} and potential late domains YXXL an PSAP are indicated for the Z ORF; and myristoylation site G_2, posttranslational processing sites for signalase (S_{59}/S_{60}) and S1P cleavage ($RKLM_{221}$), CTL epitope (I_{32}), zinc finger motif P_{415}/G_{440}, as well as conserved cysteine residues and glycosylations sites (Y) are indicated for GPC. * late domain absent in NW viruses and DANV; †:PSAP or PTAP in NW viruses, except in PIRV and TCRV (OW viruses: PPPY); # G in all viruses except LCMV (=A); ‡ D in NW clade A only; § conserved with respect to OW, and NW clade A and C; *HD*, hydrophobic domain; *TM*, transmembrane anchor.
doi:10.1371/journal.ppat.1000455.g004

and sequence assembly were performed with software programs accessible through the analysis applications at the GreenePortal website (http://156.145.84.111/Tools).

Conventional PCRs at CU were performed with HotStar polymerase (Qiagen) according to manufacturer's protocols on PTC-200 thermocyclers (Bio-Rad, Hercules, CA, USA): an enzyme activation step of 5 min at 95°C was followed by 45 cycles of denaturation at 95°C for 1 min, annealing at 55°C for 1 min, and extension at 72°C for 1 to 3 min depending on the expected amplicon size. A two-step RT-PCR protocol was also followed at CDC using Invitrogen's Thermoscript RT at 60 degrees for 30 min followed by RNase H treatment for 20 min. cDNA was amplified using Phusion enzyme with GC Buffer (Finnzymes, Espoo, Finland) and 3% DMSO with an activation step at 98°C for 30 sec, followed by the cycling conditions of 98°C for 10 sec, 58°C for 20 sec, and 72°C for 1 min for 35 cycles and a 5 min extension at 72°C. Specific primer sequences are available upon request. Amplification products were run on 1% agarose gels, purified (MinElute, Qiagen), and directly sequenced in both directions with ABI PRISM Big Dye Terminator 1.1 Cycle Sequencing kits on ABI PRISM 3700 DNA Analyzers (Perkin-Elmer Applied Biosystems, Foster City, CA).

Sequence analyses

Programs of the Wisconsin GCG Package (Accelrys, San Diego, CA, USA) were used for sequence assembly and analysis; percent sequence difference was calculated based on Needleman-Wunsch alignments (gap open/extension penalties 15/6.6 for nucleotide and 10/0.1 for aa alignments; EMBOSS [78]), using a Perl script to iterate the process for all versus all comparison. Secondary RNA structure predictions were performed with the web-based version of mfold (http://mfold.bioinfo.rpi.edu); data were exported as .ct files and layout and annotation was done with CLC RNA Workbench (CLC bio, Århus, Denmark). Protein topology and targeting predictions were generated by employing SignalP, and NetNGlyc, TMHMM (http://www.cbs.dtu.dk/services), the web-based version of TopPred (http://mobyle.pasteur.fr/cgi-bin/portal.py?form=toppred), and Phobius (http://phobius.sbc.su.se/). Phylogenetic analyses were performed using MEGA software [79].

References

1. Bowen MD, Peters CJ, Nichol ST (1997) Phylogenetic analysis of the Arenaviridae: patterns of virus evolution and evidence for cospeciation between arenaviruses and their rodent hosts. Mol Phylogenet Evol 8: 301–316.
2. Moncayo AC, Hice CL, Watts DM, Travassos de Rosa AP, Guzman H, et al. (2001) Allpahuayo virus: a newly recognized arenavirus (arenaviridae) from arboreal rice rats (oecomys bicolor and oecomys paricola) in northeastern peru. Virology 284: 277–286.
3. Armstrong C, Lillie RD (1934) Experimental lymphocytic choriomeningitis of monkeys and mice produced by a virus encountered in studies of the 1933 St. Louis encephalitis epidemic. Public Health Rep 49: 1019–1027.
4. Auperin DD, Romanowski V, Galinski M, Bishop DH (1984) Sequencing studies of pichinde arenavirus S RNA indicate a novel coding strategy, an ambisense viral S RNA. J Virol 52: 897–904.
5. Salvato MS, Shimomaye EM (1989) The completed sequence of lymphocytic choriomeningitis virus reveals a unique RNA structure and a gene for a zinc finger protein. Virology 173: 1–10.
6. Parodi AS, Greenway DJ, Rugiero HR, Frigerio M, De La Barrera JM, et al. (1958) [Concerning the epidemic outbreak in Junin.]. Dia Med 30: 2300–2301.
7. Pirosky I, Zuccarini J, Molinelli EA, Di Pietro A, Barrera Oro JG, et al. (1959) Virosis hemorragica del Noroeste Bonaerense. Orientacion Medica 8: 303–311.
8. Johnson KM, Wiebenga NH, Mackenzie RB, Kuns ML, Tauraso NM, et al. (1965) Virus Isolations from Human Cases of Hemorrhagic Fever in Bolivia. Proc Soc Exp Biol Med 118: 119–118.
9. Salas R, de Manzione N, Tesh RB, Rico-Hesse R, Shope RE, et al. (1991) Venezuelan haemorrhagic fever. Lancet 338: 1033–1036.
10. Coimbra TLM, Nassar ES, Burattini MN, de Souza LTM, Ferreira IB, et al. (1994) New arenavirus isolated in Brazil. Lancet 343: 391–392.
11. Buckley SM, Casals J (1970) Lassa fever, a new virus disease of man from West Africa. 3. Isolation and characterization of the virus. Am J Trop Med Hyg 19: 680–691.
12. Downs WG, Anderson CR, Spence L, Aitken THG, Greenhall AH (1963) Tacaribe virus, a new agent isolated from Artibeus bats and mosquitoes in Trinidad, West Indies. Am J Trop Med Hyg 12: 640–646.
13. Buchmeier MJ, de la Torre JC, Peters CJ (2007) Arenaviridae: the viruses and their replication. In: Knipe DM, Howley PM, eds. Fields Virology. Philadelphia, PA, USA: Wolter Kluwer Lippincott Williams & Wilkins. pp 1791–1827.
14. Fulhorst CF, Bowen MD, Ksiazek TG, Rollin PE, Nichol ST, et al. (1996) Isolation and characterization of Whitewater Arroyo virus, a novel North American arenavirus. Virology 224: 114–120.
15. Hugot JP, Gonzalez JP, Denys C (2001) Evolution of the Old World Arenaviridae and their rodent hosts: generalized host-transfer or association by descent? Infect Genet Evol 1: 13–20.
16. Charrel RN, de Lamballerie X, Emonet S (2008) Phylogeny of the genus Arenavirus. Curr Opin Microbiol 11: 362–368.
17. Fischer SA, Graham MB, Kuehnert MJ, Kotton CN, Srinivasan A, et al. (2006) Transmission of lymphocytic choriomeningitis virus by organ transplantation. N Engl J Med 354: 2235–2249.
18. Amman BR, Pavlin BI, Albarino CG, Comer JA, Erickson BR, et al. (2007) Pet rodents and fatal lymphocytic choriomeningitis in transplant patients. Emerg Infect Dis 13: 719–725.
19. Palacios G, Druce J, Du L, Tran T, Birch C, et al. (2008) A new arenavirus in a cluster of fatal transplant-associated diseases. N Engl J Med 358: 991–998.
20. Ogbu O, Ajuluchukwu E, Uneke CJ (2007) Lassa fever in West African sub-region: an overview. J Vector Borne Dis 44: 1–11.

Supporting Information

Figure S1 Phylogenetic tree based on deduced Z amino acid sequence. In contrast to phylogenetic trees obtained with the other ORFs (Figure 2), poor bootstrap support (43% of 1,000 pseudoreplicates) for the branching of LUJV off the LCMV clade was obtained with Z ORF sequence. For GenBank accession numbers see Figure 2.
Found at: doi:10.1371/journal.ppat.1000455.s001 (0.44 MB TIF)

Figure S2 Pairwise sliding-window distance analysis of GPC sequence. LUJV and members of the OW (LASV, MOPV, IPPYV, LCMV, DANV) and NW (GTOV, CPXV, BNCV, PIRV, OLVV, SABV, MACV) arenavirus complex were compared using LASV NL (A) or GTOV CVH (B) as query (10 aa step; 80 aa window).
Found at: doi:10.1371/journal.ppat.1000455.s002 (4.21 MB TIF)

Table S1 Pairwise nucleotide and amino acid differences between LUJV and other OW and NW arenaviruses. * NAAV, North American arenavirus. † Values <30% (amino acid) or <33% (nucleotide) are highlighted in green.
Found at: doi:10.1371/journal.ppat.1000455.s003 (0.20 MB DOC)

Acknowledgments

We are grateful to the Outbreak Control and Investigation Teams in South Africa and Zambia, and to Cathy Roth and the WHO GOARN network for their help and support. We thank Robert Serge, Jeffrey Hui, Alla Tashmukhamedova, and Katrina Ciraldo for technical assistance, and Phenix-Lan Quan for data analysis and critical comments.

Author Contributions

Conceived and designed the experiments: TB WIL. Performed the experiments: TB JTP LKM SKH GP MLK JW. Analyzed the data: TB LKM SKH CS GP MLK ME STN WIL. Contributed reagents/materials/analysis tools: JTP CS JW BS ME. Wrote the paper: TB JTP BS STN WIL.

21. Khan SH, Goba A, Chu M, Roth C, Healing T, et al. (2008) New opportunities for field research on the pathogenesis and treatment of Lassa fever. Antiviral Res 78: 103–115.
22. Swanepoel R, Leman PA, Shepherd AJ, Shepherd SP, Kiley MP, et al. (1985) Identification of Ippy as a Lassa-fever-related virus. Lancet 1: 639.
23. Meunier DY, McCormick JB, Georges AJ, Georges MC, Gonzalez JP (1985) Comparison of Lassa, Mobala, and Ippy virus reactions by immunofluorescence test. Lancet 1: 873–874.
24. Gonzalez JP, McCormick JB, Saluzzo JF, Herve JP, Georges AJ, et al. (1983) An arenavirus isolated from wild-caught rodents (Pramys species) in the Central African Republic. Intervirology 19: 105–112.
25. Wulff H, McIntosh BM, Hamner DB, Johnson KM (1977) Isolation of an arenavirus closely related to Lassa virus from Mastomys natalensis in south-east Africa. Bull World Health Organ 55: 441–444.
26. Johnson KM, Taylor P, Elliott LH, Tomori O (1981) Recovery of a Lassa-related arenavirus in Zimbabwe. Am J Trop Med Hyg 30: 1291–1293.
27. Georges AJ, Gonzalez JP, Abdul-Wahid S, Saluzzo JF, Meunier DM, et al. (1985) Antibodies to Lassa and Lassa-like viruses in man and mammals in the Central African Republic. Trans R Soc Trop Med Hyg 79: 78–79.
28. National Institute for Communicable Diseases (2008) Arenavirus outbreak, South Africa. Communicable Diseases Communique 7: 1–3. http://www.nicd.ac.za.
29. Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ (1990) Basic local alignment search tool. J Mol Biol 215: 403–410.
30. Clegg JC, Wilson SM, Oram JD (1991) Nucleotide sequence of the S RNA of Lassa virus (Nigerian strain) and comparative analysis of arenavirus gene products. Virus Res 18: 151–164.
31. Bowen MD, Rollin PE, Ksiazek TG, Hustad HL, Bausch DG, et al. (2000) Genetic diversity among Lassa virus strains. J Virol 74: 6992–7004.
32. Emonet S, Lemasson JJ, Gonzalez JP, de Lamballerie X, Charrel RN (2006) Phylogeny and evolution of old world arenaviruses. Virology 350: 251–257.
33. Bowen MD, Peters CJ, Nichol ST (1996) The phylogeny of New World (Tacaribe complex) arenaviruses. Virology 219: 285–290.
34. Albarino CG, Posik DM, Ghiringhelli PD, Lozano ME, Romanowski V (1998) Arenavirus phylogeny: a new insight. Virus Genes 16: 39–46.
35. Poch O, Sauvaget I, Delarue M, Tordo N (1989) Identification of four conserved motifs among the RNA-dependent polymerase encoding elements. EMBO J 8: 3867–3874.
36. Delarue M, Poch O, Tordo N, Moras D, Argos P (1990) An attempt to unify the structure of polymerases. Protein Eng 3: 461–467.
37. Müller R, Poch O, Delarue M, Bishop DH, Bouloy M (1994) Rift Valley fever virus L segment: correction of the sequence and possible functional role of newly identified regions conserved in RNA-dependent polymerases. J Gen Virol 75(Pt 6): 1345–1352.
38. Perez M, Craven RC, de la Torre JC (2003) The small RING finger protein Z drives arenavirus budding: implications for antiviral strategies. Proc Natl Acad Sci U S A 100: 12978–12983.
39. Garrus JE, von Schwedler UK, Pornillos OW, Morham SG, Zavitz KH, et al. (2001) Tsg101 and the vacuolar protein sorting pathway are essential for HIV-1 budding. Cell 107: 55–65.
40. VerPlank L, Bouamr F, LaGrassa TJ, Agresta B, Kikonyogo A, et al. (2001) Tsg101, a homologue of ubiquitin-conjugating (E2) enzymes, binds the L domain in HIV type 1 Pr55(Gag). Proc Natl Acad Sci U S A 98: 7724–7729.
41. Puffer BA, Parent LJ, Wills JW, Montelaro RC (1997) Equine infectious anemia virus utilizes a YXXL motif within the late assembly domain of the Gag p9 protein. J Virol 71: 6541–6546.
42. Puffer BA, Watkins SC, Montelaro RC (1998) Equine infectious anemia virus Gag polyprotein late domain specifically recruits cellular AP-2 adapter protein complexes during virion assembly. J Virol 72: 10218–10221.
43. Staub O, Dho S, Henry P, Correa J, Ishikawa T, et al. (1996) WW domains of Nedd4 bind to the proline-rich PY motifs in the epithelial Na+ channel deleted in Liddle's syndrome. EMBO J 15: 2371–2380.
44. Joazeiro CA, Wing SS, Huang H, Leverson JD, Hunter T, et al. (1999) The tyrosine kinase negative regulator c-Cbl as a RING-type, E2-dependent ubiquitin-protein ligase. Science 286: 309–312.
45. Perez M, Greenwald DL, de la Torre JC (2004) Myristoylation of the RING finger Z protein is essential for arenavirus budding. J Virol 78: 11443–11448.
46. Strecker T, Maisa A, Daffis S, Eichler R, Lenz O, et al. (2006) The role of myristoylation in the membrane association of the Lassa virus matrix protein Z. Virol J 3: 93.
47. Capul AA, Perez M, Burke E, Kunz S, Buchmeier MJ, et al. (2007) Arenavirus Z-glycoprotein association requires Z myristoylation but not functional RING or late domains. J Virol 81: 9451–9460.
48. Gonzalez JP, Bowen MD, Nichol ST, Rico-Hesse R (1996) Genetic characterization and phylogeny of Sabia virus, an emergent pathogen in Brazil. Virology 221: 318–324.
49. Whitton JL, Tishon A, Lewicki H, Gebhard J, Cook T, et al. (1989) Molecular analyses of a five-amino-acid cytotoxic T-lymphocyte (CTL) epitope: an immunodominant region which induces nonreciprocal CTL cross-reactivity. J Virol 63: 4303–4310.
50. Gonzalez JP, Sanchez A, Rico-Hesse R (1995) Molecular phylogeny of Guanarito virus, an emerging arenavirus affecting humans. Am J Trop Med Hyg 53: 1–6.
51. Lenz O, ter Meulen J, Klenk HD, Seidah NG, Garten W (2001) The Lassa virus glycoprotein precursor GP-C is proteolytically processed by subtilase SKI-1/S1P. Proc Natl Acad Sci U S A 98: 12701–12705.
52. Beyer WR, Popplau D, Garten W, von Laer D, Lenz O (2003) Endoproteolytic processing of the lymphocytic choriomeningitis virus glycoprotein by the subtilase SKI-1/S1P. J Virol 77: 2866–2872.
53. Rojek JM, Lee AM, Nguyen N, Spiropoulou CF, Kunz S (2008) Site 1 protease is required for proteolytic processing of the glycoproteins of the South American hemorrhagic fever viruses Junin, Machupo, and Guanarito. J Virol 82: 6045–6051.
54. Burns JW, Buchmeier MJ (1991) Protein-protein interactions in lymphocytic choriomeningitis virus. Virology 183: 620–629.
55. Eichler R, Lenz O, Strecker T, Garten W (2003) Signal peptide of Lassa virus glycoprotein GP-C exhibits an unusual length. FEBS Lett 538: 203–206.
56. Burns JW, Buchmeier MJ (1993) Glycoproteins of the arenaviruses. In: Salvato MS, ed. The Arenaviridae. New York: Plenum Press. pp 17–33(35).
57. von Heijne G (1984) How signal sequences maintain cleavage specificity. J Mol Biol 173: 243–251.
58. York J, Romanowski V, Lu M, Nunberg JH (2004) The signal peptide of the Junin arenavirus envelope glycoprotein is myristoylated and forms an essential subunit of the mature G1–G2 complex. J Virol 78: 10783–10792.
59. Bowen MD, Peters CJ, Mills JN, Nichol ST (1996) Oliveros virus: a novel arenavirus from Argentina. Virology 217: 362–366.
60. Pinheiro FP, Shope RE, de Andrade AHP, Bensabath G, Cacios GV, et al. (1966) Amapari, a new virus of the Tacaribe group from rodents and mites of Amapa Territory, Brazil. Proc Soc Exp Biol Med 122: 531–535.
61. York J, Nunberg JH (2006) Role of the stable signal peptide of Junin arenavirus envelope glycoprotein in pH-dependent membrane fusion. J Virol 80: 7775–7780.
62. Fulhorst CE, Bowen MD, Salas RA, de Manzione NM, Duno G, et al. (1997) Isolation and characterization of pirital virus, a newly discovered South American arenavirus. Am J Trop Med Hyg 56: 548–553.
63. Fircher H, Moskophidis D, Rohrer U, Burki K, Hengartner H, et al. (1990) Viral escape by selection of cytotoxic T cell-resistant virus variants in vivo. Nature 346: 629–633.
64. Lenz O, ter Meulen J, Feldmann H, Klenk HD, Garten W (2000) Identification of a novel consensus sequence at the cleavage site of the Lassa virus glycoprotein. J Virol 74: 11418–11421.
65. York J, Nunberg JH (2007) A novel zinc-binding domain is essential for formation of the functional Junin virus envelope glycoprotein complex. J Virol 81: 13385–13391.
66. Cao W, Henry MD, Borrow P, Yamada H, Elder JH, et al. (1998) Identification of alpha-dystroglycan as a receptor for lymphocytic choriomeningitis virus and Lassa fever virus. Science 282: 2079–2081.
67. Spiropoulou CF, Kunz S, Rollin PE, Campbell KP, Oldstone MB (2002) New World arenavirus clade C, but not clade A and B viruses, utilizes alpha-dystroglycan as its major receptor. J Virol 76: 5140–5146.
68. Radoshitzky SR, Abraham J, Spiropoulou CF, Kuhn JH, Nguyen D, et al. (2007) Transferrin receptor 1 is a cellular receptor for New World haemorrhagic fever arenaviruses. Nature 446: 92–96.
69. Riviere Y, Ahmed R, Southern PJ, Buchmeier MJ, Oldstone MB (1985) Genetic mapping of lymphocytic choriomeningitis virus pathogenicity: virulence in guinea pigs is associated with the L RNA segment. J Virol 55: 704–709.
70. Lukashevich IS, Patterson J, Carrion R, Moshkoff D, Ticer A, et al. (2005) A live attenuated vaccine for Lassa fever made by reassortment of Lassa and Mopeia viruses. J Virol 79: 13934–13942.
71. Archer AM, Rico-Hesse R (2002) High genetic divergence and recombination in Arenaviruses from the Americas. Virology 304: 274–281.
72. Charrel RN, de Lamballerie X, Fulhorst CF (2001) The Whitewater Arroyo virus: natural evidence for genetic recombination among Tacaribe serocomplex viruses (family Arenaviridae). Virology 283: 161–166.
73. Charrel RN, Feldmann H, Fulhorst CF, Khelifa R, de Chesse R, et al. (2002) Phylogeny of New World arenaviruses based on the complete coding sequences of the small genomic segment identified an evolutionary lineage produced by intrasegmental recombination. Biochem Biophys Res Commun 296: 1118–1124.
74. Palacios G, Quan PL, Jabado OJ, Conlan S, Hirschberg DL, et al. (2007) Panmicrobial oligonucleotide array for diagnosis of infectious diseases. Emerg Infect Dis 13: 73–81.
75. Saiki RK, Scharf S, Faloona F, Mullis KB, Horn GT, et al. (1985) Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. Science 230: 1350–1354.
76. Margulies M, Egholm M, Altman WE, Attiya S, Bader JS, et al. (2005) Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. Nature 437: 376–380.
77. Cox-Foster DL, Conlan S, Holmes EC, Palacios G, Evans JD, et al. (2007) A metagenomic survey of microbes in honey bee colony collapse disorder. Science 318: 283–287.
78. Rice P, Longden I, Bleasby A (2000) EMBOSS: the European Molecular Biology Open Software Suite. Trends Genet 16: 276–277.
79. Kumar S, Tamura K, Nei M (2004) MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. Brief Bioinform 5: 150–163.

別紙様式第2-1

No. 16

医薬品 研究報告 調査報告書

識別番号・報告回数			報告日	第一報入手日	新医薬品等の区分	総合機構処理欄
				2009. 8. 11	該当なし	
一般的名称	乾燥濃縮人血液凝固第Ⅷ因子					
販売名(企業名)	クロスエイトM250(日本赤十字社) クロスエイトM500(日本赤十字社) クロスエイトM1000(日本赤十字社) クロスエイトM静注用250単位(日本赤十字社) クロスエイトM静注用500単位(日本赤十字社) クロスエイトM静注用1000単位(日本赤十字社)	研究報告の公表状況	ProMED 20090806.2782, 2009 Aug 6. 情報源: Portal Amazonia, 2009 Aug 5.		公表国 ブラジル	使用上の注意記載状況・その他参考事項等 クロスエイトM250 クロスエイトM500 クロスエイトM1000 クロスエイトM静注用250単位 クロスエイトM静注用500単位 クロスエイトM静注用1000単位

研究報告の概要

○オロポーチ熱—ブラジル(アマパー州)

8月4日、ブラジル、アマパー州南部の都市マザガオの当局は、過去3ヶ月間にオロポーチ熱に感染した人は657名以上になると発表した。このうち29名が検査によって感染を確認された。患者は当初マラリアやデング熱を疑われていたが、検査によって初めてオロポーチ熱であることが判明した。アマパー州では長い間報告されていなかった、オロポーチ熱は艾カカ(Cicoides)によって媒介される疾患で、症状はデングやマラリアによく似ており、発熱、頭痛、全身の筋肉痛などが認められる。2009年の初発例は3月に発生し、4月、5月には600例を超えた。

オロポーチウイルスは、ブラジル国内で2番目に多いアルボウイルス性発熱疾患の原因ウイルスで、ブラジルでは過去30年間で約50万例以上の同疾患患者が発生しており、パナマ、ペルー、スリナム、トリニダード・トバゴでも発生が確認されている。感染流行の発生はアマゾン地域に限られている。

報告企業の意見	今後の対応
ブラジル、アマパー州南部の都市マザガオで、オロポーチ熱のアウトブレイクが発生したとの報告である。オロポーチウイルスは脂質膜を持つ比較的大型のRNAウイルスで、これまで本製剤によるロポーチ熱発症の報告はない。本製剤の製造工程には、平成11年8月30日付医薬発第1047号に沿ったウイルス・プロセスバリデーションによって検証された2つの異なるウイルス除去・不活化工程が含まれていることから、本剤の安全性は確保されていると考える。	日本赤十字社では、輸血感染症対策として問診時に海外渡航歴の有無を確認し、帰国(入国)後4週間は献血不適としている。また、発熱などの体調不良者を献血不適としている。今後も引き続き、新興・再興感染症の発生状況等に関する情報の収集に努める。

血液を原料とすることに由来する感染症伝播等
vCJD等の伝播のリスク

(15)

Back

Archive Number 20090806.2782
Published Date 06-AUG-2009
Subject PRO/AH/EDR> Oropouche fever - Brazil: (AP)

OROPOUCHE FEVER - BRAZIL: (AMAPA)
****
A ProMED-mail post
<http://www.promedmail.org>
ProMED-mail is a program of the
International Society for Infectious Diseases
<http://www.isid.org>

Date: Wed 5 Aug 2009
Source: Portal Amazonia [in Portuguese, trans. Mod.TY, edited]
<http://portalamazonia.globo.com/pscript/noticias/noticias.php?idN=89739>

In the prefecture, about 657 cases of Oropouche fever have been reported
---
The Municipality of Mazagao (PMMZ) yesterday (4 [Aug 2009]) released a report of around 657 cases of oropouche [virus] infection with fever in the municipality in last 3 months. Of these, 29 were [laboratory] confirmed by the Instituto Evandro Chagas (IEC). The IEC found that the disease was caused by biting midges [_Culicoides_].

According to the secretary of health of Mazagao, Jose Monteiro, the 1st [disease] suspected was malaria followed by dengue, and only afterward was oropouche diagnosed by the IEC. The disease has not been reported in Amapa for a long time. The symptoms are very similar to those of dengue and malaria: fever, headache, generalized myalgia. Biting midges, common in the region, are one of the vectors of the virus.

The 1st cases of oropouche fever appeared in March 2009; in April and May this year there was an tremendous increase of notifications, more than 600, in Mazagao Velho and Carvao localities. We are taking several steps, such as a service for cleaning and spraying in the city, to eliminate the outbreak of the disease, said Jose Monteiro.

The oropouche virus is the 2nd most frequent cause of arbovirus fever in Brazil. According to the Ministry of Health (MoH), about half a million cases of fever have occurred in Brazil in the last 30 years, there are records of events in Panama, Peru, Suriname and Trinidad and Tobag

Outbreaks of oropouche fever have been recorded only in the Amazon. Global warming of the planet, deforestation and consequent redistribution of insect vectors and animal reservoirs are some factors.

--
Communicated by:
ProMED-PORT
<promed@promedmail.org>

[Mazagao is located next to Manga, just to the southwest, near the mouth of the Amazon River. Its population does not exceed 15 000 inhabitants, providing an incidence of 4380 fever cases per 100 000 inhabitants overall. Oropouche is a virus of the Bunyaviridae family. It was isolated for the 1st time in 1960. It is transmitted by _Culicoides spp_ and is one of the most common causes of undifferentiated fever in northern and central-west Brazil. The disease caused by the virus and essentialkly is benign, presenting no great (health or mortality) risk. - Mod.LJS]

[Oropouche fever cases have also occurred in Peru, where it was

initially confused with dengue virus infections (see the ProMED archive below). Some recent reports of oropouche virus infections in Brazil include:

Ref: Sporadic oropouche virus infection, acre, Brazil.
Emerg Infect Dis 15:348-50.
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2657612>

Authors: Bernardes-Terzian AC, de-Moraes-Bronzoni RV, Drumond BP, Da Silva-Nunes M, da-Silva NS, Urbano-Ferreira M, Speranca MA, Nogueira ML. 20

Ref: Oropouche fever epidemic in Northern Brazil: epidemiology and molecular characterization of isolates.
J Clin Virol, 44:129-33.
<http://www.journalofclinicalvirology.com/article/S1386-6532%2808%2900399-5> (abstract)

Authors: Vasconcelos HB, Azevedo RS, Casseb SM, Nunes-Neto JP, Chiang JO, Cantuaria PC, Segura MN, Martins LC, Monteiro HA, Rodrigues SG, Nunes MR, Vasconcelos PF. 2009.

A map showing the location of Mazagão in the Amazon River delta can be accessed at:
<http://www.maplandia.com/brazil/amapa/mazagao/sao-tome/register/>

A HealthMap/ProMED-mail interactive map of Brazil can be accessed at:
<http://healthmap.org/promed/en?v=-10.8,-53.1,4>
- Mod. TY]

[See also:
1995

Oropouche fever - Peru 19950328.0167
.....ty/ljs/ejp/dk

別紙様式第2-1

No. 14

医薬品 研究報告 調査報告書

識別番号・報告回数			報告日	第一報入手日	新医薬品等の区分	総合機構処理欄
				2009. 7. 21	該当なし	
一般的名称	人血清アルブミン		研究報告の公表状況		公表国	
販売名(企業名)	赤十字アルブミン20(日本赤十字社) 赤十字アルブミン25(日本赤十字社) 赤十字アルブミン20%静注4g/20mL(日本赤十字社) 赤十字アルブミン20%静注10g/50mL(日本赤十字社) 赤十字アルブミン25%静注12.5g/50mL(日本赤十字社)			山中篤志, 菊池郁夫, 姫路大輔, 井上靖, 上田章. 第83回日本感染症学会総会学術講演会; 2009 Apr 23-24; 東京.	日本	

研究報告の概要

○新興感染症コウモリオルソレオウイルス感染症による急性上気道炎を発症した国内初症例

2007年に初めて報告された新興感染症コウモリオルソレオウイルス(別名マラッカウイルス)感染による急性上気道炎を経験した。患者は38歳男性で2007年11月に新婚旅行にて2週間インドネシア・バリ島に滞在した。帰国数日前より発熱、関節痛が出現し、帰国時も症状持続のため他院を受診し、抗菌薬、解熱剤を処方され帰宅したが、症状が悪化し救急外来に搬送された。簡易インフルエンザキットにて陰性であったが、高熱、関節痛及び上気道炎症状が強く、現地の鶏との濃厚接触歴があったため鳥インフルエンザ感染疑い例としての患者対応を開始した。翌日には鳥インフルエンザ感染は否定され隔離解除、約1週間後には軽快退院し、以後症状を認めなかった。後日、ウイルス分離、血清抗体価よりオルソレオウイルス感染症であったことが判明した。

レオウイルス科のコウモリオルソレオウイルスによる急性上気道炎は、2007年に初症例がマレーシアにて報告された。このウイルスはコウモリを自然宿主とするとされ、水平感染の可能性が示唆されている。本患者は渡航先でコウモリとの直接の接触はなかったが、発症数日前に上気道症状を有する現地住民との接触歴を有していた。感染判明後直ちに本患者及び接触者を対象に血清学的検査が行われ、本患者では回復期に抗体が検出されたが、他の対象者は全て陰性であった。本症例は国内初症例であるとともに、国際的にも1例目の報告以降に未だ報告を確認できていない。今回は日本人旅行者の多い旅行地での短期滞在で感染しており、水平感染の可能性も示唆されていることから、輸入感染症として今後わが国でも大変危惧される感染症である。加えて、症状がインフルエンザの症状と大変似ていることから鳥インフルエンザ、新型インフルエンザ感染症の擬似症例としても今後重要になってくると考える。

使用上の注意記載状況・その他参考事項等

赤十字アルブミン20
赤十字アルブミン25
赤十字アルブミン20%静注4g/20mL
赤十字アルブミン20%静注10g/50mL
赤十字アルブミン25%静注12.5g/50mL

血液を原料とすることに由来する感染症伝播等

報告企業の意見	今後の対応
インドネシア・バリ島から帰国後コウモリオルソレオウイルスによる上気道炎を発症し、ヒトーヒト感染の可能性が考えられた国内初の症例である。 オルソレオウイルスは脂質膜を持つRNAウイルスである。これまで、本剤によるオルソレオウイルス感染の報告はない。本剤の製造工程には、平成11年8月30日付医薬発第1047号に沿ったウイルス・プロセスバリデーションによって検証された2つの異なるウイルス除去・不活化工程が含まれていることから、本剤の安全性は確保されていると考える。	念のため今後も情報収集に努める。なお、日本赤十字社では帰国(入国)後4週間は献血不適とし、輸入感染症の防止に努めている。

16

JRC2009T-040

224

O-171 新興感染症コウモリオルソレオウイルス感染症による急性上気道炎を発症した国内初症例

県立宮崎病院内科
○山中篤志, 菊池郁夫, 姫路大輔, 井上 靖, 上田 章

今回, 我々は2007年に初めて報告された新興感染症コウモリオルソレオウイルス(別名マラッカウイルス)感染による急性上気道炎を経験したので報告する.

症例は38歳男性で2007年11月に新婚旅行にて2週間インドネシア・バリ島に滞在した. 帰国数日前より発熱, 関節痛が出現し, 帰国時も症状持続のため他院を受診し抗菌薬, 解熱剤を処方され帰宅したが症状増悪し救急外来に搬送された. 簡易インフルエンザキットにて陰性であったが, 高熱, 関節痛及び咳嗽, 咽頭痛などと上気道炎症状強く, 問診にて現地の鶏との濃厚接触歴があったため鳥インフルエンザ感染疑い例としての患者対応を開始した. 翌日には鳥インフルエンザ感染は否定され隔離解除, 約1週間後には軽快退院し, 以後症状を認めなかった. 後日, ウイルス分離, 血清抗体価よりオルソレオウイルス感染症であったことが判明した.

レオウイルス科のコウモリオルソレオウイルスによる急性上気道炎は2007年に初症例がマレーシアにて報告された. このウイルスはコウモリを自然宿主とするとされ, 水平感染の可能性が示唆されている. 本患者は渡航先でコウモリとの直接の接触はなかったが, 発症数日前に上気道症状を有する現地住民との接触歴を有していた. 感染判明後直ちに本患者及び接触者を対象に血清学的検査が行われ, 本患者では回復期に抗体が検出されたが, 他の対象者は全て陰性であった.

本症例は国内初症例であるとともに国際的にも1例目の報告以降に未だ報告を確認できていない. 今回は日本人旅行者の多い旅行地での短期滞在で感染しており, また水平感染の可能性も示唆されていることから輸入感染症として今後わが国でも大変危惧される感染症である. 加えて, 症状がインフルエンザの症状と大変似ていることから鳥インフルエンザ, 新型インフルエンザ感染症の擬似症例としても今後重要になってくると考える.

O-172 国内初の新興感染症「ヒトアナプラズマ症」2症例について

静岡県立大・食品栄養科学・微生物[1], 高知県衛生研究所[2], 宝戸病院[3], 愛媛県立中央病院[4], 岐阜大学[5], 国立感染症研究所細菌第一部[6], 国立感染症研究所ウイルス第一部[7], ○大橋典男[1], 千屋誠治[2], 船戸恭孝[3], 塩沢正明[4], 高野 愛[5], 川端寛樹[6], 安藤秀二[7], 岸本寿男[7]

近年, マダニを介してヒトに発熱症状を起こす新興感染症「ヒトアナプラズマ症」が欧米で問題となっている. 今回, 2002~2003年に高知県で日本紅斑熱が疑われた患者18名の保存血清を解析したところ, 2名からヒトアナプラズマ(Anaplasma phagocytophilum: Ap)に特異的なp44/msp2遺伝子が検出され, ヒトアナプラズマ症の国内における存在を初めて確認した. 1名はヒトアナプラズマ症で, もう1名はApと日本紅斑熱リケッチア(*Rickettsia japonica*: Rj)の混合感染症例であった. 【症例1】61歳, 男性, 農業. 2003年1月5日より39℃台の発熱が出現. 1月6日に近医受診. 体幹中心に紅斑を認める. セフェム系抗菌薬が無効で, 1月8日にA病院に紹介. 日本紅斑熱疑いで入院. 入院時, 体幹中心の紅斑と, 右臀背部に刺し口様の所見あり. WBC正常, CRP上昇, 軽度肝機能障害. 入院後MINO200mg/日の点滴で徐々に解熱し, 紅斑, 全身倦怠感も改善し, 1月17日に退院となるも農業診断は不明であった. 今回, 保存血清からApおよびRj遺伝子が検出され, ヒトアナプラズマ症と診断された. 【症例2】73歳, 男性, 森林業. 2002年8月29日より発熱と発疹が出現, 9月2日に近医受診し日本紅斑熱疑いで入院. 入院時38℃の発熱と, 全身の発疹, 右大腿部に刺し口様の出血跡あり. WBC正常, CRP上昇, 中等度肝機能障害. 入院後MINO200mg/日の点滴で徐々に解熱し, 発疹も改善し, 9月22日退院. 今回, 保存血清からApおよびRj遺伝子が検出され, 両者の混合感染症例と診断された. 今後リケッチア症を疑う患者では, ヒトアナプラズマ症も考慮すべきである. [非会員共同研究者: 島田図, 高畑(静岡県立大), 川森文彦(静岡県環衛研), 福永和俊(高知衛研), 浜宇津良治(中芸クリニック), 中島秀樹(高知大)]

別紙様式第2-1

No. 29

医薬品 研究報告 調査報告書

識別番号・報告回数			報告日	第一報入手日	新医薬品等の区分	総合機構処理欄
				2009. 7. 21	該当なし	
一般的名称	新鮮凍結人血漿		研究報告の公表状況	大橋典男, 千屋誠造, 船戸豊彦, 塩尻正明, 高野愛, 川端寛樹, 安藤秀二, 岸本寿男. 第83回日本感染症学会総会学術講演会; 2009 Apr 23-24; 東京.	公表国 日本	
販売名(企業名)	新鮮凍結血漿「日赤」(日本赤十字社) 新鮮凍結血漿-LR「日赤」(日本赤十字社) 新鮮凍結血漿-LR「日赤」成分採血(日本赤十字社)					

研究報告の概要

○国内初の新興感染症「ヒトアナプラズマ症」2症例について

近年、マダニを介してヒトに発熱症状を起こす新興感染症「ヒトアナプラズマ症」が欧米で問題となっている。今回、2002～2003年に高知県で日本紅斑熱が疑われた患者18名の保存血液を解析したところ、2名からヒトアナプラズマ(*Anaplasma phagocytophlum*: *A. p*)に特異的なp44/msp2遺伝子が検出され、ヒトアナプラズマ症の国内における存在を初めて確認した。1名はヒトアナプラズマ症で、もう1名は*A. p*と日本紅斑熱リケッチア(*Rickettsia japonica*: *R. j*)の混合感染症例であった。【症例1】61歳男性農業。2003年1月5日より39℃台の発熱が出現、1月6日に近医受診。体幹中心に紅斑を認める。セフェム系抗菌薬が無効で、1月8日にA病院に紹介、日本紅斑熱疑いで入院。入院時、体幹中心の紅斑と、右肩背部に刺し口様の所見あり。WBC正常、CRP上昇、軽度肝機能障害。入院後ミノマイシン200mg/日の点滴で徐々に解熱し、紅斑、全身倦怠感も改善し、1月17日に退院となるも最終診断は不明であった。今回、保存血液から*A. p*遺伝子が検出され、ヒトアナプラズマ症と診断された。【症例2】73歳男性森林業。2002年8月29日より発熱と発疹が出現、9月2日に近医受診し日本紅斑熱疑いで入院。入院時38℃ の発熱と、全身の発疹、右大腿部に刺し口様の出血跡あり。WBC正常、CRP上昇、中等度肝機能障害。入院後ミノマイシン200mg/日の点滴で徐々に解熱し、発疹も改善し、9月22日退院。今回、保存血液から*A. p*遺伝子と、*R. j*遺伝子が検出され、両者の混合感染症例と診断された。今後リケッチア症を疑う患者では、ヒトアナプラズマ症も考慮すべきである。

使用上の注意記載状況・その他参考事項等

新鮮凍結血漿「日赤」
新鮮凍結血漿-LR「日赤」
新鮮凍結血漿-LR「日赤」成分採血

血液を介するウイルス、細菌、原虫等の感染
vCJD等の伝播のリスク

報告企業の意見	今後の対応
2002～2003年に高知県で日本紅斑熱が疑われた患者18名の保存血液を解析したところ、2名からヒトアナプラズマに特異的なp44/msp2遺伝子が検出され、日本におけるヒトアナプラズマ症の存在が初めて確認されたとの報告である。	日本赤十字社では、発熱などの体調不良者を献血不適としている。今後も引き続き、新興・再興感染症の発生状況等に関する情報の収集に努める。

(17)

JRC2009T-041

224

O-171 新興感染症コウモリオルソレオウィルス感染症による急性上気道炎を発症した国内初症例

県立宮崎病院内科
○山中篤志, 菊池郁夫, 姫路大輔, 井上 靖, 上田 章

今回, 我々は2007年に初めて報告された新興感染症コウモリオルソレオウィルス(別名マラッカウィルス)感染による急性上気道炎を経験したので報告する.

症例は38歳男性で2007年11月に新婚旅行にて2週間インドネシア・バリ島に滞在した. 帰国数日前より発熱, 関節痛が出現し, 帰国時も症状持続のため他院を受診し抗菌薬, 解熱剤を処方され帰宅したが症状増悪し救急車にて当院救急外来に搬送された. 簡易インフルエンザキットにて陰性であったが, 高熱, 関節痛及び咳嗽, 咽頭痛などと上気道炎症状強く, 問診にて現地の鶏との濃厚接触歴があったため鳥インフルエンザ感染疑い例としての患者対応を開始した. 翌日には鳥インフルエンザ感染は否定され隔離解除, 約1週間後には軽快退院し, 以後症状を認めなかった. 後日, ウィルス分離, 血清抗体価よりオルソレオウィルス感染症であったことが判明した.

レオウィルス科のコウモリオルソレオウィルスによる急性上気道炎は2007年に初症例がマレーシアにて報告された. このウィルスはコウモリを自然宿主とするとされ, 水平感染の可能性が示唆されている. 本患者は感染先でコウモリとの直接の接触はなかったが, 発症数日前に上気道症状を有する現地住民との接触歴を有していた. 感染判明後直ちに本患者及び接触者を対象に血清学的検査が行われ, 本患者では回復期に抗体が検出されたが, 他の対象者は全て陰性であった.

本症例は国内初症例であるとともに国際的にも1例目の報告以降に未だ報告を確認できていない. 今回は日本人旅行者の多い旅行地での短期滞在で感染しており, また水平感染の可能性も示唆されていることから輸入感染症として今後わが国でも大変危惧される感染症である. 加えて, 症状がインフルエンザの症状と大変似ていることから鳥インフルエンザ, 新型インフルエンザ感染症の疑似症例としても今後重要になってくると考える.

O-172 国内初の新興感染症「ヒトアナプラズマ症」2症例について

静岡県立大・食品栄養科学・微生物[1],
高知県衛生研究所[2],
室戸病院[3],
愛媛県立中央病院[4],
岐阜大学[5],
国立感染症研究所細菌第一部[6],
国立感染症研究所ウイルス第一部[7]
○大橋典男[1], 千屋誠造[2], 船戸豊彦[2], 塩尻正明[2], 高野 愛[3], 川端寛樹[4], 安藤秀二[5], 岸本寿男[6]

近年, マダニを介してヒトに発熱症状を起こす新興感染症「ヒトアナプラズマ症」が欧米で問題となっている. 今回, 2002～2003年に高知県で日本紅斑熱が疑われた患者18名の保存血液を解析したところ, 2名からヒトアナプラズマ(Anaplasma phagocytophilum: Ap)に特異的なp44/msp2遺伝子が検出され, ヒトアナプラズマ症の国内における存在を初めて確認した. 1名はApとR日本紅斑熱リケッチア(*Rickettsia japonica*: Rj)の混合感染症例であった. 【症例1】61歳 男性 農業. 2003年1月5日より39℃台の発熱が出現. 1月6日に近医受診. 体幹中心に紅斑を認める. セフェム系抗菌薬が無効で, 1月8日にA病院に紹介, 日本紅斑熱疑いで入院. 入院時, 体幹中心の紅斑と, 右肩背部に刺し口様の所見あり. WBC正常, CRP上昇, 軽度肝機能障害. 入院後MINO200mg/日の点滴で徐々に解熱し, 紅斑, 全身倦怠感も改善し, 1月17日に退院となるも最終診断は不明であった. 今回, 保存血液からApの遺伝子が検出され, ヒトアナプラズマ症と診断された. 【症例2】73歳 男性 森林業. 2002年8月29日より発熱と発疹が出現. 9月2日に近医受診し日本紅斑熱疑いで入院. 入院時38℃ の発熱と, 全身の発疹, 右大腿部に刺し口様の出血跡あり. WBC正常, CRP上昇, 中等度肝機能障害. 入院後MINO200mg/日の点滴で徐々に解熱し, 発疹も改善し, 9月22日退院. 今回, 保存血液からApの遺伝子と, Rjの遺伝子が検出され, 両者の混合感染症例と診断された. 今後リケッチア症を疑う患者では, ヒトアナプラズマ症も考慮すべきである. 【非会員共同研究者: 鳥日図, 高桂(静岡県立大), 川森文彦(静岡県環衛研), 福永和俊(高知衛研), 浜宇津良治(中芸クリニック), 中島秀樹(高知大)】

別紙様式第2-1

No. 4

医薬品 研究報告 調査報告書

識別番号・報告回数			報告日	第一報入手日	新医薬品等の区分	総合機構処理欄
				2009. 6. 15	該当なし	

一般的名称	人血清アルブミン	研究報告の公表状況	平力造, 伊藤綾香, 五井薫, 後藤直子, 百瀬俊也, 日野学. 第57回日本輸血・細胞治療学会総会; 2009 May 28-30; 大宮.	公表国
販売名(企業名)	赤十字アルブミン20(日本赤十字社) 赤十字アルブミン25(日本赤十字社) 赤十字アルブミン20%静注4g/20mL(日本赤十字社) 赤十字アルブミン20%静注10g/50mL(日本赤十字社) 赤十字アルブミン25%静注12.5g/50mL(日本赤十字社)			日本

研究報告の概要

○輸血関連感染(疑)報告症例の現状と解析(2008年)
【はじめに】日本赤十字社では、薬事法に基づき全国の医療機関より収集した副作用・感染症報告を独立行政法人医薬品医療機器総合機構へ報告している。2008年に報告された輸血関連感染(疑)症例149例の現状と解析結果について報告する。
【対象と方法】調査対象がウイルスに起因する場合は当該製剤の保管検体等による個別NATにより、細菌の場合は当該製剤(使用済みバッグ)又は同一製造番号の血漿の細菌培養試験等により調査を行い解析した。
【結果と考察】149例の病原体別内訳はHBV61例(41%)、HCV38例(26%)、細菌46例(31%)、HEV2例、HIV1例、CMV1例であった。日赤調査によりHBV4例、HEV2例及び細菌2例の献血者検体に病原体を検出した。HBV4例、HEV1例は患者ウイルスとの塩基配列比較により因果関係が高いと評価した。残るHEV1例(輸血後患者ウイルス陰性)は、症状・輸血前後の血清学的検査結果により因果関係が高いと評価した。このHEV2例は、血漿分画製剤の製造販売業者からの献血後情報を発端により判明した事例であった。細菌2例は当該製剤(血小板製剤)からStaphylococcus aureus及びStreptococcus dysgalactiae ssp. equisimilisが同定され、各々患者菌株との遺伝子型別試験等の結果から因果関係が高いと評価した。輸血後B型肝炎の1例の受血者は、その後劇症肝炎により死亡した。輸血後感染症は種々の安全対策及び医療機関による適正使用の推進により減少傾向にある。日赤では安全性をこれまで以上に向上させる目的で2008年8月より血清学的検査を凝集法から化学発光酵素免疫法へ変更し、また、NATについてもより感度の高い新NATシステムによる検査を導入した。ヘモビジランスの一環として輸血関連感染症の動向を今後も注視し、安全対策の効果を検証し、解析結果をフィードバックし、更なる血液製剤の安全性向上に資することとしたい。

使用上の注意記載状況・その他参考事項等

赤十字アルブミン20
赤十字アルブミン25
赤十字アルブミン20%静注4g/20mL
赤十字アルブミン20%静注10g/50mL
赤十字アルブミン25%静注12.5g/50mL

血液を原料とすることに由来する感染症伝播等

報告企業の意見	今後の対応
2008年に全国の医療機関から報告された輸血関連感染症例の現状とその解析結果についての報告である。 日本赤十字社では、血清学的検査に加え、HBV、HCV、HIVについて20プールでスクリーニングNATを行い、陽性血液を排除している。また、「血液製剤等に係る遡及調査ガイドライン」(平成20年12月26日付薬食発第1226011号)に基づき、輸血感染症の調査を行っている。	輸血感染症に関する新たな知見等について今後も情報の収集に努める。検査精度向上のため、これまでの凝集法と比べて、より感度の高い化学発光酵素免疫測定法(CLEIA)及び精度を向上させた新NATシステムを導入した。

18

JRC2009T-033

O-053 輸血関連感染(疑)報告症例の現状と解析(2008年)

日本赤十字社血液事業本部安全管理課
平 力造, 伊藤綾香, 五井 薫, 後藤直子, 百瀬俊也, 日野 学
TEL：03-5534-7503 FAX：03-5534-3774 E-mail：taira@bs.jrc.or.jp

【はじめに】日本赤十字社では, 薬事法に基づき全国の医療機関より収集した副作用・感染症報告を独立行政法人医薬品医療機器総合機構へ報告している. 2008年に報告された輸血関連感染(疑)症例149例の現状と解析結果について報告する.【対象と方法】調査対象がウイルスに起因する場合は当該製剤の保管検体等による個別NATにより, 細菌の場合は当該製剤(使用済みバッグ)又は同一製造番号の血漿の細菌培養試験等により調査(日赤調査)を行い解析した.【結果と考察】149例の病原体別内訳はHBV 61例(41%), HCV 38例(26%), 細菌46例(31%), HEV 2例, HIV 1例, CMV 1例であった. 日赤調査によりHBV 4例, HEV 2例及び細菌2例の献血者検体に病原体を検出した. HBV 4例, HEV 1例は患者ウイルスとの塩基配列比較により因果関係が高いと評価した. 残るHEV1例(輸血後患者ウイルス陰性)は, 症状・輸血前後の血清学的検査結果により因果関係が高いと評価した. このHEV 2例は, 血漿分画製剤の製造販売業者からの献血後情報を発端により判明した事例であった. 細菌2例は当該製剤(血小板製剤)からStaphylococcus aureus及びStreptococcus dysgalactiae ssp. equisimilisが同定され, 各々患者菌株との遺伝子型別試験等の結果から因果関係が高いと評価した. 輸血後B型肝炎の1例の受血者は, その後劇症肝炎により死亡した. 輸血後感染症は種々の安全対策及び医療機関による適正使用の推進により減少傾向にある. 日赤では安全性をこれまで以上に向上させる目的で2008年8月より血清学的検査を凝集法から化学発光酵素免疫法へ変更し, また, NATについてもより感度の高い新NATシステムによる検査を導入した. ヘモビジランスの一環として輸血関連感染症の動向を今後も注視し, 安全対策の効果を検証し, 解析結果をフィードバックし, 更なる血液製剤の安全性向上に資することとしたい.

O-054 20プールNAT導入後, 初めて輸血後HCV感染を確認された再生不良性貧血の一例

名古屋市立大学病院輸血部[1], 名古屋市立大学医学研究科腫瘍・免疫内科学[2],
愛知県赤十字血液センター[3], 日本赤十字社中央血液研究所[4]
小池史泰[1], 坂野章吾[1,2], 石田高司[2], 越知則予[1], 村瀬幸雄[1], 尾関一輝[1], 溝上雅史[1], 楠本 茂[2],
小松弘和[2], 上田龍三[2], 神谷 忠[3], 柚木久雄[4]
TEL：052-851-5511 FAX：052-858-7410 E-mail：sbannos@med.nagoya-cu.ac.jp

輸血後HCV感染はHBV感染に比べて, 感染リスクの推定が困難な程, 非常に少ない. 今回, 20プールNAT検査導入後, はじめて, 輸血後HCV感染が成立した症例を経験した. 54歳, 女性, 最重症再生不良性貧血. 輸血前感染症検査でHCV抗体陰性, HCVコア蛋白陰性. 2007年6月20日に初回輸血. ATG, CyA治療は効果なく, 2007年10月1日の同種骨髄移植前の感染症検査で肝機能正常, HCV抗体(CLEIA)陰性であったがHCVコア蛋白が陽性(28183.1fmol/L)を認めた. 血液センターに副作用報告し, 当院の輸血前凍結保存血清でHCV-RNA(PCR)陰性を確認した. 輸血に使用された54本(RCCまたはPC)すべての保管検体のHCV個別NATを実施し, 1検体(8月17日, RCC輸血)のHCV-RNA陽性検体が特定できた. この血液の分画原料用血漿を用い, 患者, 献血者のHCVコア領域(196bp), およびコア～E1～E2領域(1279bp)の核酸配列をRT-PCR direct sequence, 分子系統樹により比較解析した. 両者の核酸配列が一致し, 輸血によるHCV感染と考えられた. 2007年10月17日に骨髄移植を施行し, 2008年3月30日に肺炎のため死亡された. HCV混入血の輸血から約7ヶ月の経過でHCV抗体が陽性になることはなく, AST/ALTの上昇もほとんどなかったが, HCVコア蛋白値は5000fmol/L以上であった. 20プールNAT陰性献血血液由来の血液製剤からのHCV感染の報告は本邦では初めてであり, 本例は非常に微量なHCVが, 宿主の免疫能低下により, 感染が成立したこと, 肝機能異常がなく, HCV抗体陰性であり, HCVコア蛋白が測定されなければ, 最後までHCV感染は不明であり, 移植後免疫能が回復したときに肝炎発症した可能性がある. 血液疾患など宿主の免疫能により, 極めて微量のHCVにより, 感染が成立し, 輸血後感染症検査の重要性, HCVコア蛋白測定の必要性を示唆している.