

薬事・食品衛生審議会  
平成22年度 第1回 血液事業部会運営委員会

## 議事次第

日時：平成22年5月18日（火）  
10:00～12:00  
場所：弘済会館 「菊」の間  
東京都千代田区麹町5-1

## 議題：

1. 委員長の選出及び委員長代理の指名
2. 議事要旨の確認
3. 感染症定期報告について
4. 血液製剤に関する報告事項について
5. 日本赤十字社からの報告事項について
6. その他

## 配付資料：

## 座席表

## 委員名簿

- 資料 1 平成21年度第4回血液事業部会運営委員会議事要旨（案）
- 資料 2 感染症定期報告について
- 資料3-1 供血者からの遡及調査の進捗状況について
- 資料3-2 血液製剤に関する報告事項について
- 資料3-3 献血件数及びHIV抗体・核酸増幅検査陽性件数
- 資料 4 XMRVに関する文献報告
- 資料 5 日本赤十字社血液事業本部組織の変更について（日本赤十字社提出資料）
- 資料6-1 フィブリノゲン製剤納入先医療機関の追加調査について（平成22年4月23日公表）
- 資料6-2 C型肝炎訴訟の和解について（平成22年4月26日公表）

## 平成21年度第4回血液事業部会運営委員会議事要旨

日時：平成22年3月2日（火）14:00～16:00

場所：航空会館 701+702会議室

出席者：高橋委員長、大平、岡田、佐川、花井各委員  
（事務局）

亀井血液対策課長、光岡血液対策企画官、難波江課長補佐、秋山需給専門官

（採血事業者）

日本赤十字社血液事業本部 田所経営会議委員、日野副本部長、菅原献血推進課長、百瀬安全管理課長、五十嵐参事

（参考人）

水澤参考人

## 議題：1. 議事要旨の確認

2. 感染症定期報告について
3. 血液製剤に関する報告事項について
4. 日本赤十字社からの報告事項について
5. その他

## （審議概要）

議題1について

議事要旨に関する意見等については、事務局まで連絡することとされた。

議題2について

感染症定期報告について、事務局から説明後、質疑応答がなされた。

議題3について

事務局及び日赤から、供血者からの遡及調査の進捗状況、血液製剤に関する報告事項、献血件数及びHIV抗体・核酸増幅検査陽性件数について説明後、下記のような意見が出された。

- 輸血後肝炎の報告について、これまで供血者の方の再来が確保できていないところは、文書で要請して善意で応じていただいているので難しいかもしれないが、供血者の方に応じていただければ、輸血による感染ではない可能性が高いことが示されるため、献血からの血液の安全性への信頼が高まると思うので、なるべく応じていた

だけのように方法を考えてほしい。

- 病院での保管検体の確保が十分でないことがあるので、もう少し周知した方がよいかもしれない。

#### 議題4及び5について

##### (新型インフルエンザに係る対応関係)

事務局から、「新型インフルエンザの国内発生に係る血液製剤の安全性確保について(平成21年5月18日付け血液対策課長通知)」、日赤から、「献血後に新型インフルエンザ(A/H1N1)と診断(疑いを含む)された献血者血液のウイルス検査の結果について」報告後、今回の新型 H1N1インフルエンザがウイルス血症を呈していて感染するリスクがある可能性は極めて低いと考えられることから、献血後に今回の新型インフルエンザと判明した患者の方の献血血液を回収する等の措置は必要ないと結論された。

##### (HBV genotype NATコントロールサーベイ関係)

水澤参考人から、「HBV genotype NATコントロールサーベイ結果報告書」について報告があり、下記のような意見が出された。

- NAT については各社とも十分な精度で行っており、引き続きしっかりした対応をとって実施していただきたい。
- NAT コントロールサーベイについては継続的に実施することが必要だと思う。

##### (血液製剤に対する感染性因子低減化(不活化)技術関係)

事務局から、「主要諸外国における血小板製剤への病原体低減化技術の導入状況に関する調査結果報告書」及び日赤から、「2009年12月10日に開催された薬事・食品衛生審議会血液事業部会運営委員会において指摘された事項に対する回答」、「血小板製剤に対する感染性因子低減化(不活化)技術導入準備について」報告後、下記のような意見が出された。

- 部会において、評価するためのデータが十分示されていないとの指摘が出された。今回の資料は丁寧に調べられており、整理ができた。
- 前回の運営委員会では、安全性の観点、日本の血液事業へドラスティックな変化を及ぼさないという観点から、リボフラビン法を第一選択とすることが支持されたが、リボフラビン法を用いた時の血小板の活性化等の影響について慎重に検討して頂きたい。
- 他の不活化法との比較も有用であるので、海外での臨床試験の結果等を含め、しっかりと調べて頂きたい。

- 他国が行っているように、費用対効果を評価すべきではないか。
- 薬価にはねかえるのは大きな問題。
- 一部の国で地域限定で行われているが、100%使われている国はない。
- 臨床での有効性、安全性を評価するのに十分なデータが揃っていない印象。
- 出血事例どネガティブな報告があり、それをひっくり返すだけのデータは得られていない
- イギリスは技術を評価することを得意とする国。その国が導入すべきではないとの結論を出したことは、重く見るべき。
- 各国とも導入には慎重ではあるが、臨床試験など評価は充実している。日本も評価を進めるべき。

本議題について、高橋委員長より、以下の通り取りまとめられた。

- 今回の海外調査により、イギリスで現時点では本技術を導入しない決定がなされたこと、ドイツでは本技術は現在使用されていないこと、オランダでのアモトサレン法の臨床試験結果の論文が現在投稿中であることその他に、スペイン、イタリア、ポーランド等での使用状況等が新たに報告された。
- 今後、臨床試験の実施に向け、残されたin vitroでの課題への対応と、海外での臨床試験や市販後調査の情報収集を行っていただきたい。
- 特に、フランスでの臨床試験の結果、イタリア等での市販後調査の結果に加え、臨床試験がドイツ、オランダ、スイスで開始される予定とのことであるので、これらの情報をしっかり集めていただきたい。
- 今後、新しい知見等が得られた場合は、改めてご報告いただきたい。ただし、リボフラビン法にとらわれることなく、新しい技術も含めて幅広くそういう情報を今後とも集めていただきたい。

##### (フィブリノゲン関係)

事務局から、フィブリノゲン製剤及び血液凝固因子製剤に関する公表等について報告がなされた。

以上

感染症定期報告に関する今後の対応について

平成16年度第5回  
運営委員会確認事項  
(平成16年9月17日)

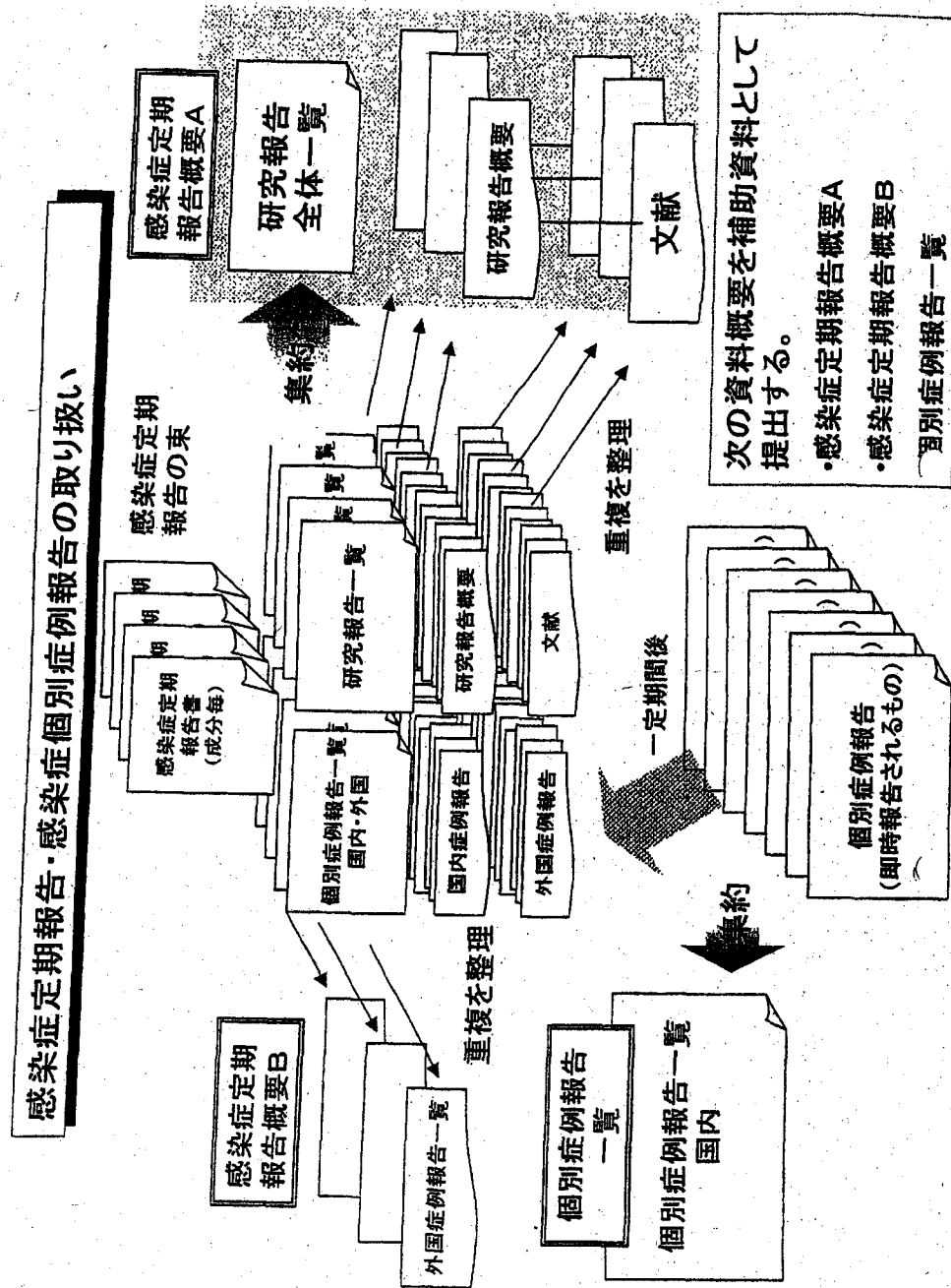
1 基本的な方針

運営委員会に報告する資料においては、

- (1) 文献報告は、同一報告に由来するものの重複を廃した一覧表を作成すること。
- (2) 8月の運営委員会において、国内の輸血及び血漿分画製剤の使用した個別症例の感染症発生報告は、定期的にまとめた「感染症報告事例のまとめ」を運営委員会に提出する取り扱いとされた。これにより、感染症定期報告に添付される過去の感染症発生症例報告よりも、直近の「感染症報告事例のまとめ」を主として利用することとする。

2 具体的な方法

- (1) 感染症定期報告の内容は、原則、すべて運営委員会委員に送付することとするが、次の資料概要を作成し、委員の資料の確認を効率的かつ効果的に行うことができるようにする。
  - ① 研究報告は、同一文献による重複を廃した別紙のような形式の一覧表を作成し、当該一覧表に代表的なものの報告様式(別紙様式第2)及び該当文献を添付した「資料概要A」を事務局が作成し、送付する。
  - ② 感染症発生症例報告のうち、発現国が「外国」の血漿分画製剤の使用による症例は、同一製品毎に報告期間を代表する感染症発生症例一覧(別紙様式第4)をまとめた「資料概要B」を事務局が作成し、送付する。
  - ③ 感染症発生症例報告のうち、発現国が「国内」の輸血による症例及び血漿分画製剤の使用による感染症症例については、「感染症報告事例のまとめ」を提出することから、当該症例にかかる「資料概要」は作成しないこととする。ただし、運営委員会委員から特段の議論が必要との指摘がなされたものについては、別途事務局が資料を作成する。
- (2) 発現国が「外国」の感染症発生症例報告については、国内で使用しているロットと関係がないもの、使用時期が相当程度古いもの、因果関係についての詳細情報の入手が困難であるものが多く、必ずしも緊急性が高くないと考えられるものも少なくない。また、国内症例に比べて個別症例を分析・評価することが難しいものが多いため、緊急性があると考えられるものを除き、その安全対策への利用については、引き続き、検討を行う。
- (3) 資料概要A及びBについては、平成16年9月の運営委員会から試験的に作成し、以後「感染症の報告について(目次)」資料は廃止することとする。



## 感染症定期報告概要

(平成22年5月18日)

平成21年12月1日受理分以降

- A 研究報告概要
- B 個別症例報告概要

## A 研究報告概要

- 一覧表（感染症種類毎）
- 感染症毎の主要研究報告概要
- 研究報告写

### 研究報告のまとめ方について

- 1 平成21年12月1日以降に報告された感染症定期報告に含まれる研究報告（論文等）について、重複している分を除いた報告概要一覧表を作成した。
- 2 一覧表においては、前回の運営委員会において報告したもので以降の研究報告について、一覧表の後に当該感染症の主要研究報告の内容を添付した。

感染症定期報告の報告状況(2009/12/1~2010/2/28)

血対ID	受理日	番号	感染症(PT)	出典	概要	新出文献No.
100070	2009/12/3	90774	A型肝炎	Eurosurveillance 2009 April 16; 14(15)	2008年9月1日-3月9日、スペイン・バルセロナにおいてA型肝炎に感染した150症例が報告された。この数は、前の2年の同時期と比べて3倍である。ほとんどの症例は、男性と性的関係を持つ男性(MSM)であることを報告した87名を含む、成人男性に発生した。これは、MSM集団におけるA型肝炎感染のアウトブレイクの可能性を示唆しており、感染リスクの高いコミュニティへのより効果的なワクチン接種プログラムの必要性を強調している。	
100070	2009/12/3	90774	B・C型肝炎	Transfusion 2009; 49: 648-654	2005年8月、カナダ血液サービスは入れ墨や耳もしくは体のピアスに対する供血延期の期間を12ヶ月から6ヶ月に短縮した。本研究では、この変更が血液の安全性および安定供給に及ぼす影響を評価した。最近の供血者40,000名を対象とし、普及率を調べた結果、入れ墨、耳、体のピアスについてそれぞれ調査回答者の13.7、53.6、10.4%であり、過去6ヶ月以内の実施は最大0.7%であった。National Epidemiology Donor Databaseを用いて算出した供血延期期間変更前および後の感染症(TD)マーカー率は、100,000供血当たり21.6および19.2であった。症例対照試験はTD陽性供血者とマッチした対照者間のリスク因子を比較して行われ、最近の入れ墨やピアスはHCVまたはHBVのリスク因子ではなかった。延期期間の短縮により、供血延期の件数は入れ墨で20%、ピアスで32%減少した。供血期間の短縮後、検出できるほどの安全性に対する影響は少なく、血液供給においては期待効果以下ではあるが有効であった。	
100070	2009/12/3	90774	B型肝炎	Hepatology 2009; 49: S156-165	B型肝炎の再燃とは、非活動型もしくはB型肝炎が治癒した患者にB型肝炎ウイルス(HBV)の急激な増幅が起きることである。最も説明が成されている例として、B型肝炎の再燃はリンパ腫または白血病の癌化学療法を受けている非活動型もしくはほとんど活動していないB型肝炎表面抗原(HBsAg)キャリアに起きている。通常は化学療法の間血清中HBV DNAが上昇し、化学療法中止後に免疫再構築による疾病増悪およびHBV DNAクリアランスと続く。いくつかの無作為化プラセボ対照試験は、抗ウイルス剤の予防投与によって再燃を防ぐことができることを示した。癌化学療法や移植を行うHBsAg陽性者にルーテンの予防が推奨されるが、HBsAgスクリーニングを行う患者の選定や使用する抗ウイルス剤の種類や期間、およびHBsAg陰性のB型肝炎治療患者への予防など疑問はある。再燃の分子生物学的メカニズムや異なる患者集団における診断、治療および予防の最適化についての研究が望まれる。	
100070	2009/12/3	90774	B型肝炎	Transfusion 2009 July; 49: 1314-1320	HBsAg(hepatitis B surface antigen)に陽性を示した供血者とHBV(hepatitis B virus)感染者とのHBV genotypeを比較するため、HBsAg陽性供血者の遺伝子型を決定した。2006年10月-2007年9月の日本人供血者のデータは日本赤十字社から提供を受け、1887例についてHBVの主な6 genotypes(A-F)をELISA(enzyme-linked immunosorbent assay)法によって決定した。HBsAg陽性ドナーについてHBVコア抗原に対するIgM抗体の有無の確認を行った。供血者と患者間で示されたHBV genotype分布における有意差はC/B遺伝子型比で認められ、この比率は供血者で低く(2.0-3.9)、患者で高かった(5.3-18.2)。また、genotype Bの比率は10歳代の13.8%から増加し、50歳代では42.4%であったが、genotype C比率は10歳代の83.1%から50歳代の55.1%に減少した。HBsAgに対するIgM抗体およびNAT(nucleic acid test)両者に陽性であるドナーでは、genotype AおよびBは男性のみであった。日本人供血者におけるHBV genotypeの年齢特異的な分布は、B/C遺伝子型比に特徴があり、米国もしくは西欧諸国由来であるHBV genotype Aの性特異的分布は、日本人男性ドナーに観察された。	

血対ID	受理日	番号	感染症(PT)	出典	概要	新出文献No.
100075	2009/12/18	90810	B型肝炎	日本肝臓学会大会第13回 2009; A536 (2009 October 14-15) (日本消化器病学会抄録 106 A536 肝S3-13)	精血後検査におけるHBV陽性例の発生状況とその原因について全国調査を行った。2007年1-12月の精血後検査におけるHBVDNAまたはHBs抗原陽性例の発生有無を問い、有経験施設には個別調査を行った結果、精血後HBV陽性例の経験施設(37)のうち18施設が37症例を回答した。精血前(保管)検体の検査結果と献血者保管検体の個別NAT検査の成績を元に、既感染例、輸血感染例、再活性化例、その他、分類不能の5分類に該当する症例は、それぞれ19、4、6、0、8例であり、輸血を要する治療を行った患者にHBV活性化が存在することが判明した。輸血によるHBV伝播とHBV再活性化の鑑別には、精血前のHBs・HBe抗体検査か精血前検体保管が必要である。	1
100070	2009/12/3	90774	E型肝炎	Emerging Infectious Disease 2009; 15: 704-708	E型肝炎ウイルス(HEV)のgenotype 3は日本においては不顕性感染とされているが、重篤な肝炎を発症した国内8例について、強毒性をもたらすHEVの遺伝的特徴を解析するための遺伝子配列を決定した。系統解析の結果、いずれも他のgenotype 3とは区別され、JIO株と名付けられた固有のクラスターに分類された。このJIO関連ウイルスは他のHEV genotype 3とは異なる18のアミノ酸をコードしており、また、JIOクラスターのヒトHEV株のほぼすべてに共通する置換はヘリカーゼ領域(V239A)に位置し、V239Aはgenotype 4では一般的であることから、毒性の増強と関連が示唆された。また、genotype 3に属するswJ19株に感染した5匹のブタから遺伝子を解析した結果、同様にヘリカーゼにV239A置換が存在していたことから、JIO関連ウイルスが人獣共通であることが疑われた。	
100070	2009/12/3	90774	E型肝炎	第57回日本輸血・細胞治療学会 2009; 55: 244 (日本輸血細胞治療学会誌 55(2) 0-051)	北海道で献血者のHEV感染の実態を解析するため、2005年1月-2008年11月に北海道内の献血者1,075,793名について20本プールによるHEV NATを実施した。HEV NAT陽性者は140名であり、献血時のHEV抗体保有率は3割以下、感染初期の献血が多かった。陽性者のHEVのgenotypeは9割以上が3型で4型も認められた。陽性者の約割は献血前に動物肉類の喫食歴があり、陽性者の半数にはその後ALT値の上昇が見られた。北海道内の献血者集団に於けるHEV RNA陽性頻度は高く、zoonotic infectionが起きていると考えられる。	
100070	2009/12/3	90774	HHV-8感染	Journal of Infectious Disease 2009; 199(11): 1592-1598	米国内で輸血を介したHHV-8感染の調査を行った。供血者-受血者のペアを明確にした米国内調査を行うため、1970年代に登録されたTTVS(Transfusion-transmitted Viruses Study)の参加者にHHV-8血清学的検査を行った。HHV-8抗体陽性率は、供血者では2.8%、受血者では7.1%、輸血されず手術を行った対照患者では7.7%、カボジ肉腫のある対照患者では96.3%であった。1例の受血者はセロコンバージョンしたが、この患者にはHHV-8陽性の血液ユニットは輸血されなかった。また、輸血されず手術を行った対照患者1例もセロコンバージョンした。セロコンバージョン率は、受血者が1.6(1000人-年あたり)であり、輸血を受けずに手術を行った対照患者では3.6(1000人-年あたり)であった。輸血群と非輸血群におけるHHV-8セロコンバージョン率には統計学的な差はなく、かつ過去の集団の特徴(例:白血球除去施行前)は現在の輸血を介した伝播が稀であることを示している。	

血対ID	受理日	番号	感染症(PT)	出典	概要	新出文献No.
100070	2009/12/3	90774	HIV	FDA/CBER 2009 August Guidance for Industry	<p>2009年8月米国FDAは、ヒト免疫不全ウイルス1型(HIV-1)グループOの感染リスクの高いドナーの管理に関する勧告を題した企業向けガイダンスを発表し、即時適用するよう求めた。</p> <p>A.HIV-1グループO感染リスクの高い供血者を特定するために問診事項が改定された。以下の質問を供血者問診票(donor history questionnaire)のハイリスク行為についての質問に盛り込むこと。</p> <p>1.1977年以降、以下の国で生まれたかもしくは居住していたことがあるか: カルメーン、ベナン、中央アフリカ共和国、チャド、コンゴ、赤道ギニア、ケニヤ、カボン、ニジェール、ナイジェリア、セネガル、トーゴ、ザンビア。それはいつか。</p> <p>2.1977年以降にこれらの国へ選別歴がある場合、輸血や血液製剤による治療を受けたか。それはいつか。</p> <p>3.1977年以降にこれらの国で生まれたかもしくは居住していたか。</p> <p>質問のいずれかを肯定した感染の可能性のある供血者を無制限に供血延期とすること。ただし、最後のHIV-1グループOの曝露から1年後に、以下Oの勧告に従って再エントリーを検討できる。</p> <p>B.HIV-1グループO抗体の検出感度を有するラベルのIntenden Use項に記載された、供血者スクリーニング用の承認済み抗HIV-1/2テストを実施する場合、上記Aの問診を中止してもよい。</p> <p>C.HIV-1グループO感染リスクの質問への回答に基づき供給延期とされた供給者の再エントリーについて、最後のHIV-1グループOへの曝露から最低でも1年の保留期間を経た後、供給者は以下の場合、再エントリーしてよい。</p> <p>1.当該供血者の現在の供血時に、HIV-1グループO抗体の検出感度を有するラベルのIntenden Use項に記載された抗HIV-1/2スクリーニングテストの結果、陰性と判明し、かつ</p> <p>2.当該供血者が全ての供血者適格基準を満たしている。</p>	2
100081	2010/1/8	90851	HIV	Nature Medicine 2009; 15(8): 871-872	<p>2001年以降、フランスのレファレンス研究所はHIVの遺伝子多様性を調査しており、2004年に血清検査でHIV陽性であった62歳の女性の血清試料(RBF168)を分析した。この血清は女性がカルメーンからマリに移住した直後に採取された。女性は現在AIDSの症状はない。RBF168からウイルスを分離し、ウイルス遺伝子を解析した結果、RBF168はゴリラのサル免疫不全ウイルス(SIVgor)と最も近縁であった。この新しいウイルスは新しいHIV-1のプロトタイプであると思われるが、HIV-1のグループM,N,Oとは異なり、グループPと命名された。RBF168株が発見される前は、HIVグループOが最もSIVgorに近縁であったが、変異の大きさから現在のSIVgorから直接出現したのではなく、SIVgorのゴリラからヒトへの伝播が起因していると考えられた。これらの結果より、HIVの感染源としてチンパンジーに加えてゴリラが示された。</p>	
100070	2009/12/3	90774	HIV	Pediatrics 2009; 124: 658-666	<p>米圏において9、15および39ヶ月の子供3例は、臨床症状から検査が行われた結果、HIV感染と診断された。2例については、母親がHIV感染者であるが、母乳は与えず、また周産期感染は否定された。3例目は、母親ではなく養育していた叔母がHIV感染者であった。全例とも、HIV感染者である養育者が食べ物を与えており、2例では噛み与えた大人に口腔内出血があった。EnvのC2V3C3またはgp41コード領域とgagのp17コード領域を用いた系統発生解析の結果は、3例中2例は養育者の噛み与えによってHIV感染が起きたという疫学的結論を支持した。</p>	
100070	2009/12/3	90774	HIV	日本感染症学会 第83回総会 2009 April 23- 24: 314 (日本 感染症学会抄 録 p.314 P- 102)	<p>名古屋医療センターにおいて、4例にHIV-2の感染が疑われた。HIV抗体陽性かつ血中HIV-1RNAコピー数が検出限度以下を示した4例(外国籍男性3例、日本国籍女性1例)の末梢白血球より抽出したDNAを鋳型にPCRによりgagおよびenv領域の増幅後、遺伝子配列を決定した。4例中3例はHIV-2であることを確認し、日本国籍女性については確定診断に至らなかった。解析に成功した3例の内、1例はサブタイプA,他の2例はサブタイプ判定には至らなかった。日本国内においてもHIV-2のスクリーニングを強化する必要がある。</p>	

血対ID	受理日	番号	感染症(PT)	出典	概要	新出文献No.
100070	2009/12/3	90774	HTLV	47 news. 2009 Jun 27	<p>厚生労働省研究班は2008-2007年に初めて献血した全国約119万人を対象に、HTLV-1の調査を実施した結果、3787人の感染が確認され、国内感染者数は約108万人と推計した。約20年前の前回調査の120万人と比べて大きな変化はなかった。研究班班長である山ロー成国立感染症研究所客員研究員は、感染者の地域別割合の高かった九州で減少し、大都市圏(関東・中部・近畿)が増加したが、これは感染者が多い九州からの人の移動が背景にあると指摘した。</p>	
100070	2009/12/3	90774	Q熱	Eurosurveillance 2009; 14(19); 2009 May 14	<p>オランダでは2007および2008年のアウトブレイク後再びQ熱報告が2009年4月から急増し、1月1日-5月11日の間、総計345症例が報告された。男女比は約1.7:1で、年齢中央値は49(38-81)歳であった。ほとんどの患者が2007および2008年の報告と同様、Noord-Brabant地方の同地域の住民であるが、感染領域は拡大傾向にある。オランダにおけるQ熱の主な臨床症状は肺炎であり、2008年に報告された患者は、545例が肺炎、33例が肝炎、115例が他の発熱性疾患を発生した。Noord-Brabant地方には大規模なヤギ農場が集中しており、流産の増加している農場が発生源と疑われる。小型反芻動物へのワクチン接種義務化が始まっており、2010年には効果が出ると思われる。</p>	
100070	2009/12/3	90774	アメリカ・トリパノソーマ症	CBER ( <a href="http://www.fda.gov/cber/gdlns/chagas.htm">http://www.fda.gov/cber/gdlns/chagas.htm</a> )	<p>CBERから、輸血用全血、血液成分製剤、ヒト細胞・組織及びヒト細胞・組織由来製剤のTrypanosoma cruziが伝播する危険性を低減するための血清学的検査実施についてのガイダンス案を公表。</p>	
100070	2009/12/3	90774	アメリカ・トリパノソーマ症	Emerging Infectious Disease 2009; 15:653-655	<p>ブラジルで2006年1-11月に発生したアメリカ・トリパノソーマ症のアウトブレイク(178症例)について、調査の結果、アサイー果実を漬す際に、原虫を媒介するサンガメの排泄物が混入した可能性が考えられた。</p>	
100080	2009/12/22	90825	アメリカ・トリパノソーマ症	FDA Guidance for Industry (draft) "Use of Serological Tests to Reduce the Risk of Transmission of Trypanosoma cruzi Infection in ....	<p>Trypanosoma cruzi抗体検出用のELISA検査システムがCBERにより許可されたことをうけ、米圏において、全血、血液成分及びHCT/Psにおけるトリパノソーマ症伝播のリスク低減のためのドナースクリーニングについて、FDAよりドラフトガイダンスが公表された。最終版発表後1年以内にこのガイダンスに適合することが推奨されることとなる。</p>	
100070	2009/12/3	90774	アメリカ・トリパノソーマ症	ProMED-mail 20090408.1328	<p>ベネズエラでグアヴァジュースの摂取によるアメリカ・トリパノソーマ症のアウトブレイクが発生し、同学校に通う児童47名と教師3名が感染。児童3名が死亡。</p>	
100075	2009/12/18	90810	アメリカ・トリパノソーマ症	日本感染症学会 第58回東日本 地方会 2009; 124 041 (2009 October 30- 31) (日本感染症 学会抄録 p.124 041)	<p>近年、各地医療機関から依頼のあった心疾患患者41名についてシャーガス病原体Trypanosoma cruzi(T.cruzi)血清抗体検査を行った結果、15名が明らかに陽性を示し、シャーガス病が示唆された。更に抗体陽性者血液からT.cruzi-DNAを検出し、また、血液培養の結果2名からT.cruzi虫体を分離した。慢性の病原体キャリアーが日本に存在することが明らかとなったが、媒介昆虫の存在しない国内において、感染経路は二次感染であるため、事前の抗体検査で防ぐことが出来る。</p>	3

血対ID	受理日	番号	感染症(PT)	出典	概要	新出文献No.
100075	2009/12/18	90810	ウイルス性脳炎	Emerging Infectious Disease 2009; 15: 1671-1672 (October 2009)	2008年7月、オーストリア東部の山岳地帯で6例が感染したTBE (Tick-born encephalitis) アウトブレイクの調査が行われた。初発患者の羊飼いは、高山牧場に24日間滞在後、髄膜炎の臨床症状を呈し、TBEV(TBE virus)感染陽性と確定された。患者はダニに咬合された記憶はなく、発症8-11日前に非殺菌のヤギ乳および牛乳から製造された自家製チーズを食べていた。同じチーズを食べた8名中5名がTBE感染と診断され、非感染であった1例はチーズを食べた直後嘔吐していた。チーズはヤギ1頭およびウシ3頭の乳から製造されたが、そのヤギはH0および中和抗体検査でTBEV陽性であり、ウシ3頭は抗体陰性であった。また、ホエイおよびヤギ乳を与えられ、同じ牧草地で飼育されていたブタ4頭がTBEV抗体陽性を示した。このアウトブレイクは、中央ヨーロッパ高地におけるTBEの新興と、TBE経口感染の高い効率性を示した。	4
100075	2009/12/18	90810	ウイルス感染	Journal of General Virology 2009; 90: 2644-2649	1996年、インドケララ州で発生した脳炎アウトブレイクの調査において、蚊(Culex tritaeniorhynchus)のプールからアルボウイルスが分離された。稀体結合検査より日本脳炎とウエストナイルウイルスに交差反応を示すアルボウイルスの特徴が示され、アルボウイルス分離株に対する過免疫血清を使用したプラーク減少・中和反応検査の結果、血清は日本脳炎ウイルスでは陽性を示さず、ウエストナイルウイルスで弱陽性であった。このアルボウイルスはバガウイルス(BAGV)の特徴を示し、脳炎患者の血清は15%(8/53)がBAGV中和抗体陽性を示した。インドからの初のBAGV分離の報告であり、また、人間集団がBAGVに曝露されていることが示唆された。	5
100070	2009/12/3	90774	ウイルス感染	PLoS Pathogens 2009; 4: e1000455	2008年に南アで発生した致死性出血熱のアウトブレイクにおいて、30年ぶりに新規の旧世界アレナウイルスが分離された。発見された地名(Lusaka, Johannesburg)より、Lujovirusと命名された。	
100070	2009/12/3	90774	ウイルス感染	ProMED-mail 20090806.2782	2009年8月4日、ブラジルMazagaoで過去3か月間に657例がオロポーチ熱に感染した事が当局は発表した。このうち29例はIEC(Instituto Evandro Chagas)によって確定診断がなされ、この病気の原因はCulicoides属スチカカによる刺咬であると分かった。症状はデング熱やマラリアに似ており、発熱、頭痛および全身筋肉痛である。初発例は2009年3月に発生し、4月および5月には報告が激増し、MazagaoのVelhoおよびCarvaóで900を超えた。オロポーチウイルスはブラジルで2番目のアルボウイルス熱の原因ウイルスであり、ブラジルでは過去30年間に約50万人の発熱例が起きている。オロポーチ熱のアウトブレイクはアマゾン地域でのみ報告がある。	
100070	2009/12/3	90774	ウイルス感染	日本感染症学会第83回総会(日本感染症学会抄録 P224 O-171)	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)による急性上気道炎の報告である。2007年11月にインドネシア・バリ島から帰国した男性は帰国数日前から発熱、関節痛が出現し、帰国後も強い上気道炎を呈し、オルソレオウイルス感染症と判明した。本ウイルスはコウモリを宿主とし、本患者はコウモリとの接触はなかったが、渡航先で上気道症状を呈する現地住民との接触があった。本患者では回復期に抗体が検出されたが、他の接触者は全て陰性であった。	
100070	2009/12/3	90774	ウエストナイルウイルス	CDC (http://www.cdc.gov/ncidod/d/vbid/westnile/surv&controlCaseCount08_detail.htm)	2008年、米国におけるウエストナイルウイルス感染症例は46州から1356例が報告され、うち887例では脳炎や髄膜炎を発症、死亡に至ったのは44例だった。	

血対ID	受理日	番号	感染症(PT)	出典	概要	新出文献No.
100075	2009/12/18	90810	ウエストナイルウイルス	Emerging Infectious Disease 2009; 15: 1668-1670 (October 2009)	WNV(West Nile virus)感染状況と2003-2008年に供給された米国製血液由来製免疫グロブリン製剤(IGIV)における中和抗体価の関係が調査された。WNVは1999年に米国に持ち込まれたが、2003年にIGIVのWNV中和抗体平均値が顕著に上昇し、米国人口の0.5%がWNVに感染したと推定された。また、米国人口における既感染者の割合は、毎年0.1%増加し、IGIVの中和抗体平均値と概ね相関があった。2008年に出荷されたIGIVの中央抗体価は平均21(n=256)であり、NATでWNV感染を確定したヒトから得られた血液では更に高い抗体価(平均208(n=30))であった。血液中IgG濃度を補正し、IGIV調整濃度10%と比較すると血漿試料はIGIVより100倍高値であった。この結果は、WNV既感染者は米国人口の1%であると推定したこれまでの報告と一致した。	6
100084	2010/1/26	90859	ウエストナイルウイルス	FDA/CBER Guidance for Industry 2009 November	2009年11月、FDAは企業向けガイダンス、「輸血目的の全血および血液成分の供血者からのWNV(West Nile Virus)感染リスクを減らすためのNAT(Nucleic Acid Tests)の使用」を発表した。勧告(Recommendation)の内容は、 A. 検査、ユニット管理および供血者の管理: 1. 輸血目的の全血および血液成分の供血サンプルにつき、承認されたNAT(MP-NATもしくはID-NAT)を用いてWNVの過年検査を行うこと。WNVの高活動地域ではID-NAT(individual donation)を推奨する。2. MP-NATによる検査の結果、陰性であったミニプールを構成していた検査サンプルのユニットは出荷できる。ミニプールがNAT陽性を示した場合には、ID-NATを用いて各サンプルを検査し、陽性を示したユニットを特定すること。a. すべてのID-NATで陰性であったユニットは出荷できる。b. 個別献血が陽性であった場合、そのユニットは廃棄し、120日間の供血延期とし、該当献血から120日間の期間における製品の回収および貯留を推奨する。3. ID-NATを用いた検査を実施する場合には、A1、2aおよび2bの手順に従う事を推奨する。 B. MP-NATからID-NATへの切り替え: 1. 血液を収集する地域でのWNV活動が高いことを定義する基準を確立し、バリデートすること。2. 血液を集める地域でのWNV活動が高い間、MP-NATからID-NATへ切り替える閾値を設定し、また、活動が収まった際にMP-NATに戻す閾値を設定すること。3. 実行可能になり次第、ただし、閾値到達から48時間以内に、MP-NATからID-NATに切り替える。 4. この決定に関するSOPを作成し、従うこと。 C. 検査実施の報告 D. 輸血目的の全血および血液成分の表示	7
100095	2010/2/9	90920	感染	Google News 2008 December 18	2009年12月18日、臓器提供者から少なくとも1人の臓器移植者に極めて珍しい感染が認められ、初のアーマー(Balamuthia mandrillaris)のヒト-ヒト感染が報じられた。11月にUMMC(University of Mississippi Medical Center)で神経移植で亡くなった患者から臓器提供を受けた4例のうち、2例は重症(それ以外は無症状)であり、CDCは1例にBalamuthia mandrillarisを確認した。この微小寄生虫は土壌で発見され、ヒト、ウマ、イヌ、ヒツジおよび霊長類に感染を引き起こす。免疫抑制状態にある臓器移植患者では危険な寄生虫である。ヒト感染は極めて珍しく、1990年の発見後、世界で150例のみが報告されている。	8
100070	2009/12/3	90774	感染症	第57回日本輸血・細胞治療学会 2009; 55: 245 (日本輸血細胞治療学会誌 55(2) O-053)	日本赤十字社が2008年に収集し、報告した輸血関連感染(疑)症例149例の現状と解析結果である。148例の病原体別内訳は、HBV61例、HCV38例、細菌48例、HEV2例、HIV1例およびCMV1例であった。HBV4例、HEV2例および細菌2例については献血者検体から病原体を検出し、いずれも輸血と感染症との因果関係は高いと評価された。また、輸血後B型肝炎を発症した1例は、劇症肝炎により死亡した。日赤では2008年8月よりCLEIA法および新NATシステムを導入し、安全性の向上に努めている。	

血対ID	受理日	番号	感染症(PT)	出典	概要	新出文献No.
100070	2009/12/3	90774	細菌感染	日本感染症学会第83回総会 2009 April 23-24; 224 O-172 (日本感染症学会抄録 p.224 O-172)	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結果、2名からヒトアナプラズマ( <i>Anaplasma phagocytophilum</i> :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例はヒトアナプラズマ症で、もう1例はAp.と日本紅斑熱リケッチア( <i>Rickettsia japonica</i> :R.j.)の混合感染症であった。	
100070	2009/12/3	90774	チクングニヤウイルス感染	CDC 2009 August 17	2009年8月17日、米国CDCはアジアでのチクングニヤ熱のアウトブレイクに注意喚起をした。2009年1月以降、チクングニヤ熱症例数の増加がアジアの一部で報告されている。チクングニヤ熱は感染した蚊を介してもたらされるウイルスによって発症し、突発性発熱、関節痛、悪寒、頭痛、吐き気や発疹などを伴う。タイでは2009年7月22日現在、南部でアウトブレイクが起こり、34、200超の症例(死亡例なし)が報告され、マレーシアでは2009年7月18日現在、2900症例、インドでは2009年4月29日現在、2700例の疑い症例(死亡例なし)が報告された。渡航者へのアドバイスとして、チクングニヤ熱を防ぐ薬物治療やワクチンはないため、CDCは、虫除けを使用し、蚊にさされないよう自己防衛し、発症を自覚した際には、医療機関を受診するよう要めている。	
100075	2009/12/18	90810	チクングニヤウイルス感染	日本感染症学会第56回東日本地方会 2009; 124 O41 (2009 October 30-31) (日本感染症学会抄録 p.124 O41)	2009年5-6月、東南アジアから帰国後関節痛を主訴に来院した3例はチクングニヤウイルスIgM抗体および中和抗体陽性であり、血清学的にCHIKF(Chikungunya fever)と診断された。3例はそれぞれインドネシア・スマタラ島、インドネシア・ジャワ島もしくはマレーシア・アクアランプール郊外に渡航し、いずれも現地で発熱および関節痛が出現した。解熱したが帰国後も関節痛は持続し、受診に至った。	9
100070	2009/12/3	90774	デング熱	ProMED-mail 20090831.3065	ベトナムハノイ市では、デング熱症例が深刻な増加を示しており、2009年初から8月下旬までに2500症例が報告され、これは2008年の同時期と比べて10倍以上であった。また、ホーチミン市ではデング熱症例数の急増はないものの、多くの患者が重症化しており、死亡例も多くなっている。同市の第一小児病院は、毎日20-25人がデング熱症例のため来院しており、小児のデング熱症例は、感染後1-2日は手足口病やH1N1インフルエンザとの判別が難しいためデング熱への警戒をゆるめることがあるが、小児は死に至ることがあると注意喚起した。	10
100079	2009/12/18	90814	バルボウイルス	FDA/CBER Guidance for Industry 2009 July	FDAが血漿由来製品の製造業者向けに提供するガイダンス。血漿由来製品の製造に使用される原料血漿および転用血漿用の製造過程において、ヒトバルボウイルスB19を検出するための核酸増幅検査(nucleic acid test:NAT)を行う事を推奨している。すべての血漿由来製品について、製造プール中のバルボウイルスB19DNAのウイルス負荷が10000IU/mLを超えない事を保障するために、○すべての血漿由来製剤に対し、製造用プール血漿中のHPV B19 DNAの濃度が10000IU/mLを超えないように、工程内検査としてHPV B19 NATを実施すべきである。 ○血漿由来製剤の製造に投入する血漿ユニットのスクリーニングには、ミニプールサンプルに対してHPV B19 NATを実施すること。 HPV B19 NATで用いるプライマーおよびプローブは、このウイルスの既知のすべての遺伝子型を検出できるものを用いること。 ○血漿由来製剤の製造に投入する血漿ユニットに、製造用プール血漿のHPV B19 DNA濃度が1004IU/mLを超えるような高値を示すものが見つかった場合は、当該血漿ユニットは使用しないこと。	
100080	2009/12/22	90825	バルボウイルス	Transfusion (Malden) 2009; 49(7): 1488-1492	米国において、バルボウイルスB19(B19V)のGenotype3がアメリカ人献血者から初めて検出された。B19Vを検出するための広範囲な特異性のあるPCRを用い、81,000人以上の献血者から集めた約440,000の臨床サンプルを調べ、更にはB19VタイプとDNA解析および抗体濃度を調べた。この評価の結果、DNA配列分析によってB19V Genotype3に感染していると確認された米国人1人のドナーから28日の間に8回の血漿ドネーションを行っていることが明らかとなった。ウイルス価はピーク時で10 <sup>11</sup> IU/MLを示し、下がるに連れてIgMレベルが上昇し、IgGレベルは約7日遅れて上昇した。	

血対ID	受理日	番号	感染症(PT)	出典	概要	新出文献No.
100070	2009/12/3	90774	ポリビア出血熱	Emerging Infectious Disease 2009; 15; 1526-1528 (September 2009)	BHF(Bolivian hemorrhagic fever)は1959年にポリビア東部でのアウトブレイク発生時に初めて報告され、2007年2-3月、ポリビアで少なくとも20例(死亡3例)のBHF疑い例が報告された。2008年2月には少なくとも200例(死亡12例)の疑い例が報告され、19症例の血清を間接免疫蛍光法およびPCRを用いて検査した。その結果、アレナウイルス5株が分離され、ウイルスRNAの遺伝子配列の結果、マチュポウイルスを確認し、8つの主要な系統に分類された。その後も、マチュポウイルスは孤発症例やポリビアでのBHFアウトブレイクの原因となっているが、5例(死亡3例)の農業従事者である患者については、5例ともBHF感染歴のある患者からの血漿成分輸血を受けたが、3例は死亡した。病状が重篤化する前に、マチュポウイルスによって免疫が惹起された血漿を投与することが生存率を高くするかもしれない。	11
100080	2009/12/22	90825	マラリア	Clinical Infection Diseases 2009; 49; 852-860	ヒトにおける <i>Plasmodium knowlesi</i> 感染の臨床的特徴および検査結果を調べる目的で、急性P. knowlesi感染患者の背景と経過について系統的に調べ、2008年7月-2008年2月に、Kapit病院でPCRにより急性マラリアと確定された、治療歴の無い非妊婦成人から臨床データおよび検査結果を収集した。152例のうち、P. knowlesi、P. falciparumもしくはP. vivaxに感染した症例は107(70%)、24(16%)および21(14%)であり、非特異的発熱症状のあるP. knowlesi感染患者の入院時寄生虫値の中央値は1387parasite/ulであり、全例が血小板減少を示した。ほとんどのP. knowlesi感染患者には合併症はなく、クロロキンおよびプリマキン治療で治癒した。WHOの熱帯性マラリアの診断基準により人は重症であった。入院時のP. knowlesi寄生虫血症は呼吸困難の独立した決定因子であり、入院時の血清クレアチニンレベル、血清ビリルビンおよび血小板数と同様であった。2例のP. knowlesi感染患者が死亡し、死亡率は1.8%(95%信頼区間、0.2-8.6%)であった。P. knowlesiは広範囲の疾病を引き起こすが、多くの場合合併症を伴わず。治療に遅やかに反応し、約10人に1人が死亡を伴う合併症となる。	
100080	2009/12/22	90825	リケッチア症	日本感染症学会第83回総会 2009 April 23-24 (日本感染症学会抄録 p.214 O-152)	平成20年8月、仙台市においてリケッチア症を疑う患者が発生した。生検材料を用いたPCRにより陽性であったが、シーケンス解析により、ロシアや中国の患者から報告されているR. heilongjiangensisに一致した。国内に、日本紅斑熱とは異なる紅斑熱リケッチア症が存在することが示された。	
100075	2009/12/18	90810	レトロウイルス(XMRV)	Science 2009; 326; 585-588	慢性疲労症候群(CFS: Chronic Fatigue Syndrome)患者の血液細胞に感染性レトロウイルスXMRV(xenotropic murine leukemia virus-related virus)を検出した。CFSは原因不明の衰弱していく疾患で、世界中で1700万人が罹患していると推定されている。CFS患者の末梢血単核球を調べた結果、ヒトgammaherpesvirusであるXMRVのDNAが、患者101例中68例(67%)に検出され、健康対照者では218例中8例(3.7%)であった。細胞培養の結果、患者由来のXMRVは感染性があり、ウイルスの細胞を介したおよび無細胞性感染のいずれも可能性が示された。CFS患者由来の活性化PBMC、B細胞、T細胞に曝露した後、非感染初代培養リンパ球および指標細胞培養系には二次感染が認められた。これらの結果は、XMRVがCFSの病原性における要因となる可能性を示唆した。	12
100070	2009/12/3	90774	インフルエンザ	Virus Res. 2009; 140; 85-90	中国のプタからヒト様H1N1インフルエンザウイルスが検出され、プタがヒトにおけるパンデミックを引き起こす古典的なインフルエンザウイルス保有宿主である証拠が示された。	



血対 ID	受理日	番号	感染症 (PT)	出典	概要	新出文献 No.
100080	2009/12/22	90825	インフルエンザ	日本ウイルス学会第57回学術集会 1P074 (p.355) (日本ウイルス学会抄録 p.355 1P074)	日本で採血された血漿を原料として製造された静注用グロブリン製剤(IVIg)にClassical Swine Influenza A(H1N1) virusおよびInfluenza A(H1N1) pdm virusに反応する抗体が含まれているか調べ、ドナーが免疫を獲得している可能性について検討した。その結果、IVIgにプタおよび新型コロナウイルスに対するHIおよびNT活性がそれぞれ8倍、64倍と認められ、日本において、ある程度の率でInfluenza A(H1N1) pdm virusに反応する抗体を保有するドナーが存在すると推測された。	13
100080	2009/12/22	90825	新型インフルエンザ (H1N1)	CDC/MMRW 2009; 58: 521-524	05~06年、06~07年、07~08年の季節性インフルエンザワクチン接種コホートの保存ベア血清を用いて、新型インフルエンザウイルスの交差反応性を検討した。18-64歳ではワクチン接種前に8~9%、60歳以上では33%が交差反応を示した。ワクチン接種後には交差反応を示した例が18-64歳で2倍程度に増え、60歳以上では全く増えなかった。	
100069	2009/12/3	90773	新型インフルエンザ (H1N1)	CDC/MMWR 2009; 58: (Dispatch) 1-3 (2009 April 21)	2009年4月17日、米CDCはカリフォルニア南部の小児2例の急性呼吸器疾患をブタインフルエンザA(H1N1)感染であると特定した。2症例から検出されたウイルスは、アマダジン、リマダジンに抵抗性があり、米国やそれ以外の国でも報告されたことがないプタ又はヒトインフルエンザウイルスの遺伝子片を併せ持っており、固有の遺伝子断片の組み合わせが含まれていた。いずれの小児もプタとの接触はなく、感染源は不明である。	
100084	2010/1/26	90859	新型インフルエンザ (H1N1)	CDC/MMWR 2009; 58(26): 773-778	2009年5月28日、Dallas County Department of Health and Human Services (DCHHS)は5月18-28日に、ダラス郡(County)内で入院した、新型インフルエンザA感染に関連した神経系の合併症を伴う4例の小児についてCDCに報告した。これまで季節性インフルエンザの気道感染に関連した神経系の合併症は報告されているが、新型インフルエンザに関しては報告がない。患者は7、10、11および17歳であり、ILI (influenza-like illness: インフルエンザ様症状)の症状と痙攣もしくは精神状態の変化のため入院し、3例に脳波に異常が認められた。また、4例すべてに新型インフルエンザA(H1N1)ウイルスRNAが鼻咽喉検査では認められ、脳脊髄液からは認められなかった。4例すべては回復し、神経学的後遺症はなかった。	
100070	2009/12/3	90774	新型インフルエンザ (H1N1)	Eurosurveillance 2009; 14: 19244	2009年5月から6月における日本のインフルエンザA(H1N1)感染に関する疫学的特徴がまとめられた。日本の16の都道府県から、インフルエンザA型(H1N1)ウイルス確定症例が合計401例報告された。最も感染の多かった2地域は、高校でアウトブレイクが発生し休校に至った大阪市および神戸市であり、6月4日までにこの2県で357例の感染が報告され、64%が15-19歳、10%が10-14歳であり、60歳以上は1%であった。2009年6月4日現在、重症患者および死亡例の報告はなく、インフルエンザA(H1N1)に感染した患者の病状の程度は季節性インフルエンザと同程度であった。	
100070	2009/12/3	90774	新型インフルエンザ (H1N1)	FDA/CBER 2009 April 30	新型インフルエンザ(H1N1)の輸血を介した感染可能性について、輸血により季節性インフルエンザに感染した例はこれまで報告されたことが無く、新型インフルエンザについても報告されていない。現時点で、輸血のメリットは新型インフルエンザの理論的リスクをはるかに上回る。なお、血漿分画製剤については製造工程におけるクリアランスが十分であることが確認されている。	

血対 ID	受理日	番号	感染症 (PT)	出典	概要	新出文献 No.
100084	2010/1/26	90859	新型インフルエンザ (H1N1)	FDA/CBER Guidance for Industry 2009 November	2009年11月、FDAは企業向けガイダンス案、「パンデミック(H1N1)2009ウイルスに対応した供血者の適合性、血液製剤の安全性および血液供給の保全について評価するための勧告」を発表した。勧告(Recommendation)の内容は、 A. 交代委員の教育 B. 供血者の適格性、供血延期および製品管理 供血者の適格性: 原則、供血者の治療歴は採血時に収集されるが、全血もしくは原料血漿用では、供血日に収集すること。 供血延期: パンデミック(H1N1)2009インフルエンザ感染又は疑いのある患者、もしくはインフルエンザ様症状を呈する患者との接触のあった供血者について、利用可能なデータは供血延期を支持していない。供血者が供血日に健康であることを確保するため、パンデミック(H1N1)2009インフルエンザ感染又は疑いのある供血者は、解熱剤の利用なく解熱し、無症状となつてから少なくとも24時間の供血延期をすること。パンデミック(H1N1)2009ウイルスに対する生もしくは不活化インフルエンザワクチンを接種した後、もしくは、予防目的で抗ウイルス薬であるオセルタミビルおよびザナミビルを使用した後の供血者について、利用可能なデータは供血延期を支持していない。しかし、パンデミック(H1N1)2009インフルエンザ感染又は疑いのために抗ウイルス薬を服用した供血者は、上述と同様の状態から少なくとも24時間の供血延期をすること。 血液製剤の管理: 供血後48時間以内にパンデミック(H1N1)2009の感染又は疑いがある、もしくは、インフルエンザ様症状を呈したという供血者の情報を受けた際には、Medical DirectorはSOP(標準操作手順書)に従い、既に供血された製品の安全性を評価すること。なお、この勧告は、輸血用全血および血液成分の献血に適用される。 C. 承認された申請内容の変更	14
100070	2009/12/3	90774	新型インフルエンザ (H1N1)	N Engl J Med 2009; 360: 2605-2615	4月15日から5月5日の間、米国の41州において、総計842症例からヒトにおける新規ブタインフルエンザA(H1N1)ウイルスの感染を確認した。	
100080	2009/12/22	90825	新型インフルエンザ (H1N1)	Since 2009; 10.1126/SCIENCE.1176062	新型インフルエンザA(H1N1)ウイルスは世界中に急速に広まっている。パンデミックの可能性を判断するのはデータが限られているため難しいが、適切な保険対応を伝えるには必須である。メキシコでの大流行、国際的な広がり、早期情報およびウイルス遺伝的変異について分析することにより、感染力と重症度の早期評価を実施した。	
100080	2009/12/22	90825	新型インフルエンザ (H1N1)	The Canadian Press 2009 September 16	オーストラリアの研究グループは新型A1N1ウイルスに感染し重症となった妊婦では、ウイルスと戦い、体がワクチンに反応する助けとなる、特定の抗体が低値である事を発見した。ICUで治療中のブタインフルエンザ感染患者すべての抗体レベルを個々のサブタイプまで調べた結果、IgG2のレベルが低値であった。妊娠女性についての調べた結果であるが、このIgG2欠損が、ほとんどの人はインフルエンザ症状のみで治癒するが少数例は危篤となる理由が説明できる可能性がある。	
100069	2009/12/3	90773	新型インフルエンザ (H1N1)	厚生労働省 新型インフルエンザに関する報道発表資料 2009 May 16	兵庫県神戸市における新型インフルエンザ(インフルエンザA/H1N1)が疑われる患者発生についての報告。国内最初の新型インフルエンザ患者が確認された。患者は10代後半の男性。本人に接触歴はない。国立感染症研究所からの検査の結果、A型(+)、ヒトHI(-)、ヒトH3(-)、新型HI(+)であったため、新型インフルエンザ(インフルエンザA/H1N1)が否定できず、新型インフルエンザが疑われる患者として神戸市に届出があった。患者は感染症法に基づき、神戸市内の感染症指定医療機関に入院した。	

血対 ID	受理日	番号	感染症 (PT)	出典	概要	新出文献 No.
100070	2009/12/3	90774	BSE	OIE (http://www.oie.int/eng/info/en_esbmonde.html)	1989年から2008年までに、世界各国(英国を除く)から国際獣疫事務局(OIE)に報告されたBSEの報告数である。	
100070	2009/12/3	90774	BSE	OIE (http://www.oie.int/eng/info/en_esbru.htm)	1987年以前から2008年までに、英国から国際獣疫事務局(OIE)に報告されたBSEの報告数である。	
100080	2009/12/22	90825	BSE	PLoS ONE 2009; 4: E8175	魚類におけるTSE(transmissible spongiform encephalopathies)発症についての知見を得るため、gilthead sea bream(sparus aurata; ヨーロッパヘダイ)にBSE感染ウシもしくはスクレイビー感染ヒツジのホモジネートを経口投与した。魚に臨床症状は現れなかったが、投与2年後、魚の脳は神経変性の徴候と抗タイプPrP抗体に陽性を示す沈着物の蓄積が認められた。非感染動物由来の脳を投与された対照群はこのような徴候はなかった。TSE感染魚よりもBSE感染魚投与された魚に多数のプロテアーゼK抵抗性沈着物が急速に現れ、アミロイド様成分と一致した。公衆衛生上の潜在的なリスクの懸念が高まる。	15
100099	2010/2/23	90951	変異型クローンヤコブ病	AABB Weekly Report 15(39) 2009 October 22	米国AABBのTTD(Transfusion Transmitted Diseases) CommitteeがAABBのBoard of Directorへ提出したTSE (Transmissible Spongiform Encephalopathies)の現状と輸血の安全性に関する報告書である。これまで、vCJDを発症した3例からの輸血によってvCJDプリオンが伝播した4例の報告がある。そのうち、3例はvCJD発症に至り、他の要因で亡くなった1例は脾臓およびリンパ節からvCJDプリオンが検出されたが、vCJDの兆候を示さなかった。その患者はプリオン遺伝子の129番目コドンがヘテロ(MV)であった。また、vCJDを発症したドナーから血漿分画製剤を投与された患者に、vCJDプリオンが検出されたが、この患者はvCJDの兆候はなかった。米国FDAは2009年6月に、米国国内供給された血漿製剤給血者のvCJD伝播のリスクに関する新しいモデルをTSE Advisory Committeeで発表したが、最大推定リスクは1/12,000のままであり、米国患者のリスクは「極めて低い」としている。しかし、MVもしくはVV遺伝子型である無症候患者から病原性プリオンが検出されたことから、非MM遺伝子型患者にvCJD症候が現れるか、非MM遺伝子型患者はvCJDプリオンの感染キャリアーとなるかについて解決が待たれる。	16
100070	2009/12/3	90774	変異型クローンヤコブ病	BMJ 2009 May 21	英国イングランドおよびスコットランドで扁桃摘出術により摘出された匿名の扁桃腺検体を対象に、プリオンプロテイン(PrPCJD)に関連した陽性率をcross sectional opportunistic survey (随時横断調査)により調査した。2008年9月末までに63,007の検査を行い、このうち12,753検体は最もvCJDが発症した1981-85年の出生コホート由来であり、19,908検体はBSEに曝露された可能性のある1986-95年コホートから集められた。2種類の酵素免疫法両方に明確に陽性を示す検体は無く、276検体はいずれかの検査に初回陽性を示し、その繰り返し陽性率は15%であった。免疫組織化学法もしくは免疫プロット法を行った結果、この276検体を含め、陽性を示す検体はなかった。1981-85年の出生コホート由来の扁桃腺検体におけるPrPCJD陽性率は0/32681であり、1981-85年の出生コホート由来については0であり、過去の虫垂組織の調査結果よりは低かったが、矛盾はなかった。	
100075	2009/12/18	90810	変異型クローンヤコブ病	Department of Health 2009 June 5	血友病患者の脾臓中に異常プリオン蛋白質が発見されたことを受け、CJD事故委員会の要請により「vCJD Risk Assessment Calculations for a Patient with Multiple Routes of Exposure」報告書がDepartment of Healthによって作成された。感染可能性のある種々の経路を設定し、それぞれの相対的な感染確率を検討した報告である。	

血対 ID	受理日	番号	感染症 (PT)	出典	概要	新出文献 No.
100079	2009/12/18	90814	変異型クローンヤコブ病	FDA/CBER 2009 September 7	FDAのCBERは、米国承認血漿由来第VIII因子製品(pdFVIII)によるvCJD(variant Creutzfeldt-Jakob disease)リスクの可能性についての概要を公表し、要点として以下が示された。 ○近年、米国承認pdFVIII製品を投与された血友病Aおよびvon Willebrand病患者にvCJDが発病するリスクに関して疑問が提起されている。 ○リスク評価の結果、FDA、CDCおよびNIHも含めて米国PHS (Public Health Service)は、米国承認pdFVIII製品を投与された血友病Aおよびvon Willebrand病患者へのvCJDリスクは、はっきりとは分らないが、極めて小さい可能性が最も考えられる。第X因子を含めた他の血漿由来製品によるvCJDリスクは同程度小さいもしくはより小さい可能性が最も考えられる。 ○新しい情報を得るには、Hemophilia Treatment Centerの血友病もしくはvon Willebrandにおける専門家に尋ねること。	17
100080	2009/12/22	90825	変異型クローンヤコブ病	FDA/TSE advisory committee 2009 June 16	英国でvCJDに関連した凝集因子製剤を11年前に投与された血友病患者のvCJD感染の報告を受けて、米国におけるリスク管理戦略を再評価した。その結果は、米国で承認されている凝集因子製剤からのvCJD感染のリスクは極めて低いと考えられるが断言はできない、という従来と同様の評価である。	
100080	2009/12/22	90825	変異型クローンヤコブ病	HPA 2009 May 22	2004年にHealth Protection Agencyは扁桃腺に蓄積されたvCJD関連プリオンタンパク質の大規模な調査により、無症候性vCJD保有率を検討するNational Anonymous Tissue Archive(NATA)を開始。既に63000例の扁桃腺組織の収集、解析を行っており、100000例まで収集する計画であるが、現在のところ陽性サンプルは一つもなかった。	
100070	2009/12/3	90774	変異型クローンヤコブ病	ProMED-mail 20090108.0076	英国CJDサーベイランスユニットの統計によると、2009年1月5日時点でvCJD死亡患者総数には変化はなく187例のままであり、英国におけるvCJD流行は減少しつつあるとする見解に一致する。	
100085	2010/1/27	90881	変異型クローンヤコブ病	Vox Sanguinis 2009; 96: 270	1995年から3回/週でIVIg治療を受けていた61歳女性は、1997年1月~1998年2月の期間に、後にvCJDを発症した供血者由来の製剤を使用していた。この女性の死亡後、剖検により脾臓、リンパ節、脳内のプリオン蛋白を検査したが、検出されなかった。	
100084	2010/1/26	90859	変異型クローンヤコブ病	Vox Sanguinis 2009; 97(3): 207-210	英国ではvCJD(variant Creutzfeldt-Jakob disease)症例における血漿分画製剤の投与歴を明らかにするため、英国NCJDSU (National CJD Surveillance Unit)が患者の親戚や診療機関および病院を通して集めた記録の調査が行われた。NCJDSUでは問い合わせのあった全vCJD症例につき、リスク要因となる情報収集を行っている。その結果、188例の英国内vCJD症例のうち9例がのべ12回血漿分画製剤の投与を受けていた(1例はvCJDリスクが起る前の1970年であり、それ以外は1989-1998年であった)。英国CJD Incident Panelのリスク評価基準によると、11については低リスク製品であり、1つは低もしくは中程度のリスクであった。今日までの英国内vCJD症例はいずれにしても血漿分画製剤投与による感染ではないと考えられたが、今後、vCJDを発症する可能性は排除されない。	18

医薬品 研究報告 調査報告書

Table with 7 columns: 識別番号・報告回数, 一般的名称, 販売名(企業名), 報告日, 第一報入手日, 新医薬品等の区分, 総合機構処理欄. Includes details for '人赤血球濃厚液' (Human Red Blood Cell Concentrate) and a summary of the research report.

MedDRA/J Ver.12.0J



RF3-12

HBs抗体陽性者からのde novo B型肝炎の臨床像 - 肝移植例と化学療法施行例の比較

京都大学 消化器内科 千葉 勉

○上田 直秀, 丸橋 宏之, 千葉 勉

【目的】HBs抗体陽性者でもHBs抗体陽性を示す患者の肝臓内にはHBsDNAが存在し、HBsDNA陽性者からのde novo B型肝炎の臨床像はHBs抗体陽性者からのde novo B型肝炎の臨床像から明らかでない。...

HBs抗体陽性者からのde novo B型肝炎

肝移植

RF3-13

輸血前後の感染症マーカー検査からみたB型肝炎ウイルス再活性化に関する全国調査結果

旭川医科大学 感染症科・血液科・輸血部 富山大学 感染症科・輸血・細胞治療部 紀野 修一, 安村 敏, 山口 一成

【目的】輸血前後の感染症マーカー検査からみたB型肝炎ウイルス再活性化に関する全国調査結果。【目的】輸血後肝炎は血液製剤が原因と考えられてきたが、肝炎ウイルス再活性化、院内感染なども原因となり得る。...

B型肝炎ウイルスの再活性化 輸血前後の感染経路

## 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 2009. 9. 16	新医薬品等の区分 該当なし	総合機構処理欄
一般的名称	解凍人赤血球濃厚液	研究報告の公表状況	FDA, CBER. Available from: <a href="http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/Blood/ucm180817.htm">http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/Blood/ucm180817.htm</a>	公表国	
販売名(企業名)	解凍赤血球濃厚液「日赤」(日本赤十字社) 照射解凍赤血球濃厚液「日赤」(日本赤十字社) 解凍赤血球-LR「日赤」(日本赤十字社) 照射解凍赤血球-LR「日赤」(日本赤十字社)			米国	
研究報告の概要	○業界向けガイダンス 人免疫不全ウイルス1型(HIV-1)グループO感染リスクの高いドナー取扱いにかかる勧告 このガイダンスは即時適用すること。 A. HIV-1グループO感染リスクの高い供血者を排除するため、問診事項にハイリスク行動を含む直接的な質問を含めること。 1.1977年以降、以下の国で生まれたか、居住していたことがありますか。それはいつですか。 カメルーン、ベナン、中央アフリカ、チャド、コンゴ、赤道ギニア、ケニア、ガボン、ニジェール、ナイジェリア、セネガル、トーゴ、ザンビア 2.1977年以降、上記国への渡航歴がある場合、輸血や血液製剤を使用した治療を受けましたか。それはいつですか。 3.1977年以降に上記国で生まれた人もしくは居住していた人と性的接触を持ちましたか。それはいつですか。 これらの質問に「はい」と答えた供血者の延期期間については永久としないことを推奨する。供血延期となった供血者は、最後のHIV-1グループOへの曝露機会から1年の保留期間において、上記質問の回答内容及び下記Cの勧告に基づきリエントリーを考慮してもよい。 B. HIV-1グループO検出のために認可された抗HIV1/2のスクリーニング試薬を使用する場合、上記の問診を中止してもよい。 C. HIV-1グループO感染リスク関連の問診事項に、以前もしくは最近「はい」と答えて供血延期とされた供血者については、最後のHIV-1グループOへの曝露から1年の保留期間において以下の条件を満たせば、供血適格者としてリエントリーしてもよい。 1.当該供血者の現在の供血時に抗HIV1/2のグループOが検出できる検査が行われ、陰性となった場合。 2.当該供血者が他の全ての適格条件を満たした場合。				使用上の注意記載状況・ その他参考事項等
	報告企業の意見		今後の対応		解凍赤血球濃厚液「日赤」 照射解凍赤血球濃厚液「日赤」 解凍赤血球-LR「日赤」 照射解凍赤血球-LR「日赤」  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
米国食品医薬品局が、HIV-1グループO感染リスクの高いドナーの取扱いにかかる勧告を発表したとの報告である。		日本赤十字社では、HIV抗体検査に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)を導入したことに加え、20プールのNATについてもHIV-2及びHIVグループOの検出が可能な新NATシステムを導入し、陽性血液を排除している。国内外のHIV感染、AIDS発生の動向やHIV感染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。			

②

MedDRA/J Ver.12.0J

# Guidance for Industry

## Recommendations for Management of Donors at Increased Risk for Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) Group O Infection

This guidance is for immediate implementation.

FDA is issuing this guidance for immediate implementation in accordance with 21 CFR 10.115(g)(4)(i). Submit written comments on this guidance at any time to the Division of Dockets Management (HFA-305), Food and Drug Administration, 5630 Fishers Lane, Rm. 1061, Rockville, MD 20852. Submit electronic comments to <http://www.regulations.gov>. You should identify all comments with the title of this guidance.

Additional copies of this guidance are available from the Office of Communication, Outreach and Development (OCOD) (HFM-40), 1401 Rockville Pike, Suite 200N, Rockville, MD 20852-1448, or by calling 1-800-835-4709 or 301-827-1800, or email [ocod@fda.hhs.gov](mailto:ocod@fda.hhs.gov), or from the Internet at <http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/default.htm>.

For questions on the content of this guidance, contact OCOD at the phone numbers listed above.

U.S. Department of Health and Human Services  
Food and Drug Administration  
Center for Biologics Evaluation and Research  
August 2009

Table of Contents

I. INTRODUCTION..... 1

II. BACKGROUND..... 1

III. RECOMMENDATIONS..... 3

    A. Revised Questions to Identify Donors at Increased Risk of HIV-1 Group O Infection..... 3

    B. Discontinuation of the Questions that Address HIV-1 Group O Risk..... 3

    C. Reentry of Donors Deferred on the Basis of a Response to HIV-1 Group O Risk Question(s)..... 4

IV. REFERENCES..... 7

Guidance for Industry

Recommendations for Management of Donors at Increased Risk for Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) Group O Infection

*This guidance represents the Food and Drug Administration's (FDA's) current thinking on this topic. It does not create or confer any rights for or on any person and does not operate to bind FDA or the public. You can use an alternative approach if the approach satisfies the requirements of the applicable statutes and regulations. If you want to discuss an alternative approach, contact the appropriate FDA staff. If you cannot identify the appropriate FDA staff, call the appropriate number listed on the title page of this guidance.*

I. INTRODUCTION

We, the Food and Drug Administration (FDA), are providing you, blood and plasma establishments, with a revised list of countries that should be included in questions for identifying donors at increased risk for HIV-1 group O infection. We are also providing you with recommendations for discontinuing the use of some questions used to identify these donors and for management of donors previously deferred.

This guidance supersedes the memorandum entitled "Interim Recommendations for Deferral of Donors at Increased Risk for HIV-1 Group O Infection," dated December 11, 1996 (Ref. 1). That memorandum contained interim measures to reduce the risk of HIV-1 group O transmission by blood and blood products pending licensure of test kits specifically labeled for detection of antibodies to HIV-1 group O viruses. Now that an FDA-licensed test for detection of antibodies to HIV-1 group O viruses is available, those interim recommendations are no longer current.

FDA's guidance documents, including this guidance, do not establish legally enforceable responsibilities. Instead, guidances describe the FDA's current thinking on a topic and should be viewed only as recommendations, unless specific regulatory or statutory requirements are cited. The use of the word *should* in FDA's guidances means that something is suggested or recommended, but not required.

II. BACKGROUND

The first report confirming the identification of HIV-1 group O in patients from Central and West Africa was published in 1994 (Ref. 2). That same year, the Centers for Disease Control and Prevention (CDC) reported findings of a study indicating that several FDA-licensed HIV antibody screening tests were unable to detect one or two of eight group O sera (Ref. 3). Tests based on recombinant antigens and synthetic peptide antigens failed to detect at least one specimen, whereas three of the five tests based on whole virus lysate antigens detected all specimens.

## Contains Nonbinding Recommendations

In June 1994, in response to the inability of some FDA-licensed HIV antibody assays to detect HIV-1 group O sera, FDA Blood Products Advisory Committee (BPAC) recommended that manufacturers modify their test kits to include detection of HIV-1 group O in clinical specimens. Since then, we have requested manufacturers of HIV-1 assays to include group O specific antigens or sequences in their test kits to detect antibodies to HIV-1 group O or HIV-1 group O nucleic acid. We also requested that manufacturers test HIV-1 group O specimens in their clinical trials to obtain a specific claim of sensitivity for group O for their test. These requests were initially conveyed to manufacturers as letters to their Investigational New Drug Applications (INDs) and Product License Applications (PLAs), currently referred to as Biologics License Applications (BLAs).

In 1996, FDA issued the memorandum "Interim Recommendations for Deferral of Donors at Increased Risk for HIV-1 Group O Infection," to reduce the risk of HIV-1 group O transmission through blood and blood products. In that memorandum we recommended the inclusion of questions related to HIV-1 group O risk in the donor history questionnaire pending the licensure of test kits specifically labeled for detection of antibodies to HIV-1 group O viruses. These direct questions inquire as to whether the donor was born or resides in specific West and Central African countries where HIV-1 group O is prevalent, or had a history of travel to these countries, a history of blood transfusion or medical treatment since 1977 in these countries, or sexual contact since 1977 with anyone who was born or lived in these countries. We also recommended in the 1996 memorandum that donors who gave an affirmative response to one or more of the questions in the donor history questionnaire related to HIV-1 group O risk be indefinitely deferred pending licensure of test kits specifically labeled for detection of HIV-1 group O.

Since the identification of the first two HIV-1 group O cases in the United States (U.S.) around 1996 (Refs. 4, 5) there have been no additional group O cases that have been conclusively identified in the U.S. HIV-1 group O infection in the U.S. continues to be extremely rare.

In August 2003, FDA approved the biologics license application for the first donor screening test specifically labeled as sensitive for detection of antibodies to HIV-1 group O, the Genetic Systems™ HIV-1/HIV-2 Plus O EIA. Blood and plasma establishments, manufacturers and testing laboratories that are implementing a licensed test that is sensitive for HIV-1 group O antibody detection may use this test to screen blood and plasma donations for antibodies to HIV-1 and HIV-2, including HIV-1 group O. Other assays for HIV-1 group O detection are under development and if approved by FDA, may be used when available for screening blood and plasma donations.

The list of countries included in the interim recommendations in the 1996 memorandum included Cameroon and countries adjacent to Cameroon (Central African Republic, Chad, Congo, Equatorial Guinea, Gabon, Niger, and Nigeria). However, subsequent reports indicated the presence of HIV-1 group O in countries in Africa that are not adjacent to Cameroon, including Senegal, Togo, Zambia, Benin, and Kenya (Refs. 6-8). In addition, the country formerly named Zaire, recently renamed Democratic Republic of Congo, has not identified any cases of HIV-1 group O infections thus far, but the name of the country might be confused with the country of

## Contains Nonbinding Recommendations

Congo where HIV-1 group O has been identified. As a result, we recommend revisions to the list of countries of origin or residence where HIV-1 group O is endemic that is used to identify potential donors who are at increased risk of group O infection (see Figure 1 and Table 1).

With the availability of a licensed donor screening test that is sensitive for antibodies to HIV-1 group O, donors who were previously deferred may be eligible for reentry after a waiting period of one year and may be reentered if a current donation from the donor is found to be non-reactive using a group O sensitive anti-HIV-1/2 test.

### III. RECOMMENDATIONS

#### A. Revised Questions to Identify Donors at Increased Risk of HIV-1 Group O Infection

We recommend that the following questions be included in the direct questions on high risk behavior in the donor history questionnaire<sup>1</sup> to exclude donors who are at increased risk for HIV-1 group O infection:

1. Were you born in or have you lived in any of the following countries since 1977: Cameroon, Benin, Central African Republic, Chad, Congo, Equatorial Guinea, Kenya, Gabon, Niger, Nigeria, Senegal, Togo, or Zambia? If so, when?
2. If you have traveled to any of those countries since 1977, did you receive a blood transfusion or any medical treatment with a product made from blood? If so, when?
3. Have you had sexual contact with anyone who was born in or lived in these countries since 1977? If so, when?

We recommend that you defer indefinitely a potential donor who gives an affirmative answer to any of these questions. Donors deferred on this basis (or previously deferred consistent with FDA's 1996 memorandum on "Interim Recommendations for Deferral of Donors at Increased Risk for HIV-1 Group O Infection") may be considered for reentry one year after their last potential exposure to HIV-1 Group O as determined by their responses to the above donor questions, in accordance with the recommendations below in III.C.

#### B. Discontinuation of the Questions that Address HIV-1 Group O Risk

If you implement a licensed anti-HIV-1/2 test for donor screening that is specifically labeled in the "Intended Use" section of the package insert as sensitive for detection of HIV-1 group O antibodies, you may discontinue use of the questions in section III. A.

<sup>1</sup> Establishments that have implemented the AABB (formerly known as the American Association of Blood Banks) full-length donor history questionnaire (DHQ) and accompanying materials should question donors concerning possible exposure to HIV-1 group O virus using the capture question approach developed for this protocol.

that address HIV-1 group O risk. If you hold a biologics license, you must report this minor change in an annual report (section 601.12(d) of Title 21 Code of Federal Regulations (21 CFR 601.12(d)).

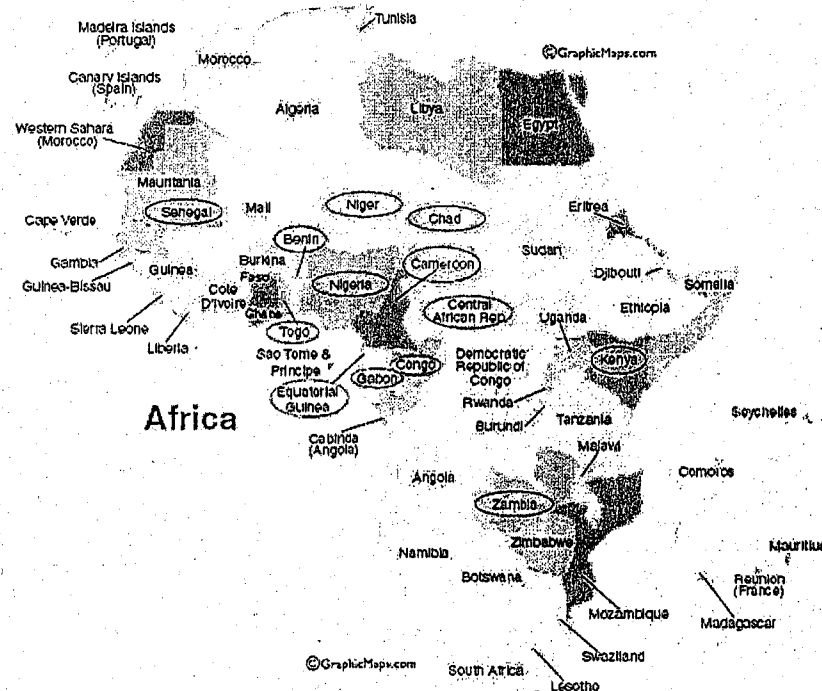
FDA recognizes that by implementing these measures, the safety benefit of the deferral due to potential group O risk is being replaced by the greater safety benefit of the group O sensitive test in a setting of low overall risk to blood safety. We believe these measures are warranted given the rarity of Group O infections in the U.S. as indicated by CDC data (Refs. 4, 5). The risk for individuals to acquire HIV-1 group O by sexual exposures in the U.S. appears to be remote given the rarity of HIV-1 group O in this country.

**C. Reentry of Donors Deferred on the Basis of a Response to HIV-1 Group O Risk Question(s)**

A donor who was deferred because of a previous or current affirmative response to one or more of the questions in the donor history questionnaire related to HIV-1 group O risk may be eligible for reentry after a waiting period of at least one year following the date of the donor's last potential exposure to HIV-1 group O. The donor may be reentered if:

1. a current donation from the donor is tested and found non-reactive using an anti-HIV-1/2 screening test that is specifically labeled in the "Intended Use" section of the package insert as sensitive for detection of HIV-1 group O antibodies, and
2. the donor meets all other donor eligibility criteria<sup>2</sup>.

<sup>2</sup> Since individuals who travel to an area considered endemic for malaria by the Malaria Branch, CDC, are deferred from donating Whole Blood and blood components for one year following their departure from the endemic area, and since the areas considered endemic for malaria include the countries in which HIV-1 group O has been identified, the current deferral for donors potentially exposed to malaria includes donors potentially exposed to HIV-1 group O while in Africa.



**Figure 1. Circled countries are those in which HIV-1 Group O is currently endemic**

**Table 1. Current and Previous List of Countries with HIV-1 Group O Risk**

Current List of Countries	Previous List of Countries
Cameroon	Cameroon
Central African Republic	Central African Republic
Chad	Chad
Congo	Congo
Equatorial Guinea	Equatorial Guinea
Gabon	Gabon
Niger	Niger
Nigeria	Nigeria
Senegal	
Togo	
Zambia	
Benin	
Kenya	

**IV. REFERENCES**

1. FDA Memorandum to All Registered Blood and Plasma Establishments, "Interim Recommendations for Deferral of Donors at Increased Risk for HIV-1 Group O Infection" (December 11, 1996).
2. P. Charneau, *et al*, Isolation and Envelope Sequence of a Highly Divergent HIV-1 Isolate: Definition of a New HIV-1 Group, *Virology* 205:247-253 (1994).
3. C. Schable, *et al*, Sensitivity of United States HIV Antibody Tests for Detection of HIV-1 Group O Infections, *Lancet* 344:1333-4 (1994).
4. Centers for Disease Control and Prevention, Identification of HIV-1 Group O Infection - 1996. *JAMA* 276:521-2 (1996).
5. P.S. Sullivan, *et al*, Human Immunodeficiency Virus (HIV) Subtype Surveillance of African-Born Persons at Risk for Group O and Group N HIV infections in the United States, *J. Infect. Diseases* 181:463-9 (2000).
6. M. Peeters, *et al*, Geographical Distribution of HIV-1 Group O Viruses in Africa, *AIDS* 11:493-8 (1997).
7. M. Heyndrickx, *et al*, HIV-1 Group O and Group M Dual Infection in Benin, *Lancet* 347:902-903 (1996).
8. E. M. Songok, *et al*, Surveillance for HIV-1 Subtypes O and M in Kenya, *Lancet* 347:1700 (1996).



## 医薬品 研究報告 調査報告書

識別番号・報告回数		報告日	新医薬品等の区分 該当なし	総合機構処理欄	
一般的名称		第一報入手日 2009. 10. 14	公表国 日本	使用上の注意記載状況・ その他参考事項等	
販売名(企業名)		研究報告の公表状況	人赤血球濃厚液	赤血球濃厚液-LR(日赤) 照射赤血球濃厚液-LR(日赤)	
赤血球濃厚液-LR(日赤)(日本赤十字社) 照射赤血球濃厚液-LR(日赤)(日本赤十字社)		三浦左千夫、竹内勤、第58回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第56回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会、2009 Oct. 30-31; 東京.	三浦左千夫、竹内勤、第58回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第56回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会、2009 Oct. 30-31; 東京.	使用上の注意記載状況・ その他参考事項等 赤血球濃厚液-LR(日赤) 照射赤血球濃厚液-LR(日赤) 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	
<b>研究報告の概要</b> ○在日ラテンアメリカ人の慢性シャーガス病キャリアーと2次感染予防 我が国の在日ラテンアメリカ人は既に40万人に達する勢いで増加している。そのうちブラジルからの滞在者が80%を占めており、その8万人が既に定住永住権を取得している。こうした中で、南米特有の風土病シャーガス病患者も散見されるようになった。近年各地医療機関から依頼のあった心疾患患者41名について、シャーガス病病原体 <i>Trypanosoma Cruzi</i> ( <i>T. cruzi</i> ) 血清抗体検査を行った。その結果15名(36.58%)が明らかに陽性と判定され、シャーガス病が示唆された。更に、抗体陽性者について血液を材料にしたPCRを行った結果4名に <i>T. cruzi</i> -DNA産物を検出した。病原体の血液内生残が示唆されたので、更に血液培養を試みた結果2名(抗体陽性者の13.3%)から <i>T. cruzi</i> 虫体を分離することが出来た。即ち慢性の病原体キャリアーが日本に現存することが明らかとなった。ECGでは不整脈、心エコーで拡張型心筋症を示した。ブラジル、ボリビアの生活歴がある者に関して、検査は皆無であったが、心室拡張症で通院している同一患者は消化器症状(飲み込み困難、排便困難)をも訴えているものの、検査は受けていない。本疾患の特徴は感染者の70%は病型が定まらない慢性感染であるが、事前の抗体チェックでこのような2次感染が防げることである。ラテンアメリカ人の多くを抱える地方自治体は健康保健支援環境を整備し、シャーガス病の2次感染を阻止すべく啓蒙監視活動を強化すべきであり、全国的に行われている善意の献血現場で抗体スクリーニングを実施すべく、体制の整備を行う必要がある。		<b>今後の対応</b> 日本赤十字社は、輸血感染症対策としてシャーガス病の既往がある場合には献血不適としている。日本在住の中南米出身献血者については、厚生労働科学研究「献血の安全性確保と安定供給のための新興感染症等に対する検査スクリーニング法等の開発と献血制限に関する研究」班と共同して検討する予定である。今後引き続き情報収集に努める。	③		
<b>報告企業の意見</b> 近年各地の医療機関から依頼のあった在日ラテンアメリカ人心疾患患者41名のうち、15名が <i>Trypanosoma Cruzi</i> 抗体陽性と判定され、PCRで4名の血液の中からDNAを検出、2名から虫体が分離されたとの報告である。					

MedDRA/J Ver.12.0J

041

在日ラテンアメリカ人の慢性シャーガス病キャリアーと2次感染予防

慶應義塾大学医学部熱帯医学寄生虫学

○三浦 左千夫, 竹内 勤

我が国の在日ラテンアメリカ人は既に40万人に達する勢いで増加している。そのうちブラジルからの滞在者が80%を占めており、その8万人が既に定住永住権を取得している。こうした中で、南米特有の風土病シャーガス病患者も散見されるようになった。近年各地医療機関から依頼のあった心疾患患者41名についてシャーガス病病原体 *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) 血清抗体検査を行った。その結果15名(36.58%)が明らかに陽性と判定され、シャーガス病が示唆された。更に、抗体陽性者について血液を材料にしたPCRを行った結果4名に *T. cruzi*-DNA産物を検出した。病原体の血液内生残が強く示唆されたので、更に血液培養を試みた結果2名(抗体陽性者の13.3%)から *T. cruzi* 虫体を分離することが出来た。即ち慢性の病原体キャリアーが日本に現存することが明らかとなった。ECGでは不整脈、心エコーで拡張型心筋症を示した。ブラジル、ボリビアの生活歴がある者に関しては、我が国では臨床経験の少ないシャーガス病感染を検討すべきである。

一方、消化器系の症状を訴える患者の検査依頼は皆無であったが、心室拡張症で通院している同一患者は消化器症状(飲み込み困難、排便困難)をも訴えているものの、検査を受けていない。

本疾患の特徴は感染者の70%は病型が定まらない慢性感染で、一見健康者とみえることである。本人、家族もその感染を認知するものは少ない。

媒介昆虫の存在しない日本国内で感染が起こるとすれば、それは輸血感染、臓器移植による2次感染であると思われる。重要な点は、事前の抗体チェックでこのような2次感染が防げることである。ラテンアメリカ人の多くを抱える地方自治体は健康保健支援環境を整備し、シャーガス病の2次感染を阻止すべく啓蒙監視活動を強化すべく、全国的に行われている善意の献血現場で抗体スクリーニングを実施すべく、体制の整備を行う必要がある。

042

遷延する関節痛を主訴に来院したチクングニヤ熱の3例

<sup>1</sup>国立国際医療センター 戸山病院 国際疾病センター、<sup>2</sup>長崎大学 熱帯医学研究所 臨床医学分野、<sup>3</sup>国立感染症研究所 ウイルス第一部

○水野 泰希<sup>1</sup>, 氏家 無限<sup>1,2</sup>, 竹下 望<sup>1</sup>, 加藤 康幸<sup>1</sup>, 金川 修造<sup>1</sup>, 工藤 宏一郎<sup>1</sup>, 林 昌宏<sup>1</sup>, 高崎 智彦<sup>3</sup>

チクングニヤ熱(*Chikungunya fever*; CHIKF)は発熱、関節炎、発疹を主症状とする熱性疾患であり、臨床症状や検査所見はデング熱に類似するが、遷延する関節症状が特徴的である。本年になり東南アジア地域を中心に再びCHIKF流行が拡大しており、当センターにおいても2009年5月から6月にかけての2ヶ月間で、東南アジアから帰国後に遷延する関節痛を主訴に来院した3例を血清学的にCHIKFと診断したのでその概要を報告する。(症例1)52歳日本人男性。2009年3月26日から4月5日までインドネシア・スマトラ島へ蜂の採集目的で滞在。3月31日に39.5度の発熱、関節痛(両手足首、両膝)が出現。翌日に発熱したものの関節痛は持続したため、帰国後5月上旬に近医整形外科を受診。関節リウマチ、痛風検査を実施されるも陰性であったため、精査目的で当センターを受診した。(症例2)30歳日本人男性。2009年4月16日より6月14日までインドネシア・ジャバ島へ舞台公演目的で滞在。5月13日に発熱、関節痛(右足首、左膝、右腕)、頭痛、発疹が出現。4日後に解熱したものの関節痛は持続したため6月22日に当センターを受診した。(症例3)39歳日本人女性。2009年4月4日より6月28日までマレーシア・クアラルンプール郊外に帯同家族として滞在。5月12日に39.5度の発熱、関節痛(両手足首)、発疹、歯肉炎が出現。現地の病院で膠原病スクリーニング等の精査を受け、異常所見は認められなかったものの関節痛が持続するため、6月30日に当センターを受診した。いずれの症例も来院時の検査でチクングニヤウイルスIgM抗体及び中和抗体陽性であり、血清学的にCHIKFと確定診断した。流行地から帰国した後、遷延する関節症状を訴える患者を診療する場合には、リウマチ性疾患との鑑別の上でもCHIKFの可能性を考慮に入れた正確な血清診断を行うべきである。

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 2009. 10. 7	新医薬品等の区分 該当なし	総合機構処理欄
一般的名称	人赤血球濃厚液	研究報告の公表状況	Holzmann H, Aberle SW, Stiasny K, Werner P, Mischak A, Zainer B, et al. Emerg Infect Dis. 2009 Oct. Available from <a href="http://www.cdc.gov/EID/content/15/10/1672.htm">http://www.cdc.gov/EID/content/15/10/1672.htm</a>	公表国	使用上の注意記載状況・その他参考事項等
販売名(企業名)	赤血球濃厚液-LR「日赤」(日本赤十字社) 照射赤血球濃厚液-LR「日赤」(日本赤十字社)			オーストリア	
研究報告の概要	<p>○オーストリア山岳地域におけるヤギ・チーズ摂食によるダニ媒介性脳炎 オーストリアの海拔1,500m域の山岳地域において、2008年7月に、ヒト6名とブタ4頭に非殺菌ヤギ乳を介して伝播したダニ媒介性脳炎ウイルス(TBEV)を報告する。 初発患者は43歳の羊飼いで、高山牧草に24日間滞在した後、非細菌性尿道炎とインフルエンザ様症状で入院し髄膜炎の臨床症状を発症した。ELISAによって血清学的にTBEV感染陽性と確認された。患者はダニに咬まれた記憶はなかったが、発症8~11日前に非殺菌ヤギ乳及び牛乳から製造された自家製チーズを食べていた。さらに調査したところ、同じチーズを食べた6名中5名が血清学的にTBEV感染と診断された。 チーズ原料の乳を搾ったヤギはHI及び中和抗体検査でTBEV陽性と確認された。ウシ3頭は抗体陰性であり、問題のチーズは検査用に入手できなかった。牧草で飼育されていたブタ4頭がホエイとヤギ乳を与えられており、TBEV抗体陽性となったが、臨床症状は見られなかった。 このアウトブレイクは、中央ヨーロッパ高地におけるTBEVの新興と、TBEVの経口感染の高い効率性を示している。感染した6名については、ワクチンを接種していれば感染を予防できたであろう。</p>			赤血球濃厚液-LR「日赤」 照射赤血球濃厚液-LR「日赤」  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	オーストリア山岳地域において、ヒト6名とブタ4頭に非殺菌ヤギ乳を介してダニ媒介性脳炎ウイルスが伝播したとの報告である。	今後の対応	<p>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。</p>		

4

MedDRA/J Ver.12.0J

## Tick-borne Encephalitis from Eating Goat Mountain Region of Austria

Heidemarie Holzmann, Stephan W. Aberle, Karin Stiasny, Philipp Werner, Andreas Mischak, Bernhard Zainer, Markus Netzer, Stefan Koppi, Einar Bechter, and Franz X. Heinz

We report transmission of tick-borne encephalitis virus (TBEV) in July 2008 through nonpasteurized goat milk to 6 humans and 4 domestic pigs in an alpine pasture 1,500 m above sea level. This outbreak indicates the emergence of ticks and TBEV at increasing altitudes in central Europe and the efficiency of oral transmission of TBEV.

Tick-borne encephalitis virus (TBEV) is a human pathogenic flavivirus that is endemic to many European countries and to parts of central and eastern Asia (1). Even though vaccination can effectively prevent TBE (2), >10,000 cases are reported annually for hospitalized persons in areas of Europe and Asia to which TBE is endemic. TBEV occurs in natural foci characterized by ecologic habitats favorable for ticks, especially in wooded areas within the 7°C isotherm (3). The major route of virus transmission is tick bites, but TBEV also can be transmitted during consumption of nonpasteurized milk and milk products from infected animals, primarily goats (3). Outbreaks resulting from oral virus transmission are rare in central Europe but more common in eastern Europe and the Baltic states (3). Our investigation of TBEV transmitted by milk from a goat in an alpine pasture in a mountainous region provides evidence for a changing TBEV epidemiology in central Europe and the expansion of ticks and TBEV to higher regions.

### The Study

We investigated a TBE outbreak, comprising 6 cases, in a mountain region in western Austria in July 2008. The

**Author affiliations:** Medical University of Vienna, Vienna, Austria (H. Holzmann, S.W. Aberle, K. Stiasny, F.X. Heinz); Regional Hospital, Rankweil, Austria (P. Werner, S. Koppi); and Austrian Public Health Authorities, Vorarlberg, Austria (A. Mischak, B. Zainer, M. Netzer, E. Bechter)

DOI: 10.3201/eid1510.090743

Emerging Infectious Diseases • www.cdc.gov/eid • Vol. 15, No. 10, October 2009

index case occurred in a 43-year-old shepherd who had stayed for 24 days at his alpine pasture (1,564 m above sea level) before he was hospitalized for nonbacterial urethritis and nonspecific influenza-like symptoms (including pain in the lower abdomen and legs), followed by clinical signs of meningitis. TBEV infection was confirmed serologically by ELISA demonstration of specific immunoglobulin (Ig) M and IgG in serum and cerebrospinal fluid. The patient did not remember a tick bite but had eaten self-made cheese prepared from a mixture of nonpasteurized goat milk and cow milk 8–11 days before illness onset; further investigation found 6 additional persons who had eaten the same cheese (Figure). For 5 of them, recent TBEV infection was serologically proven (Table). For 3 of these persons (2 men, 44 and 65 years of age; and 1 woman, 60 years of age), similar to the index patient, a typical biphasic course and symptoms of TBE (nonspecific flu-like symptoms followed by fever, cephalalgia, meningism, and ataxia after 4–10 days) developed and they were hospitalized. The 2 other persons who had eaten the cheese (female, 37 and 7 years of age) were clinically asymptomatic. The noninfected person had vomited shortly after eating the cheese because of a gastric banding. None of the infected persons had been vaccinated against TBEV.

The cheese was prepared from a mixture of fresh milk from 1 goat and 3 cows and was eaten shortly after production. Detection of TBEV-specific hemagglutination-inhibiting (HI) and neutralizing antibodies in the goat's serum proved infection in the goat; the 3 cows were seronegative for TBEV. At the time of this investigation (1 month after cheese production), TBEV was already undetectable by PCR in serum and milk of the goat. Cheese from the 3 batches produced after the contaminated batch was TBEV negative by PCR. The original cheese was no longer available for testing.

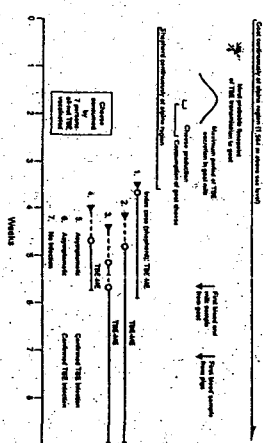


Figure. Time course and series of events of a tick-borne encephalitis (TBE) outbreak from cheese made with goat milk. Week 0, transport of goat to high altitude; ►, onset of disease; ◯-1, hospitalization period; TBEV, tick-borne encephalitis virus; ME, meningoenzephalitis.

Table. Infection parameters of 7 persons exposed to TBEV by eating nonpasteurized goat cheese, Austria, 2008\*

Sex/ age, y	Incubation, d	Symptoms/signs	Diagnosis	Hospitalized, d	Virologic parameters			TBEV infection confirmed
					Material	TBEV ELISA IgM	TBEV IgG	
M/43	11	Fever, cephalaea, meningism, aseptic urethritis; CSF: pleocytosis	ME	18	Serum CSF	Pos Pos	Pos Pos	Yes
M/65	10	Fever, cephalaea, meningism, vertigo, cerebellar ataxia; CSF: pleocytosis	ME	30	Serum CSF	Pos Pos	Pos Pos	Yes
F/60	14	Fever, cephalaea, meningism, vertigo, cerebellar ataxia; CSF: pleocytosis	ME	25	Serum CSF	Pos Pos	Pos Pos	Yes
M/44	9	Fever, cephalaea, meningism, vertigo, cerebellar ataxia; CSF: pleocytosis	ME	9	Serum CSF	Pos Pos	Pos Pos	Yes
F/37	NA	None	NA	0	Serum	Pos	Pos	Yes
F/7	NA	None	NA	0	Serum	Pos	Pos	Yes
F/45	NA	None	NA	0	Serum	Neg	Neg	No

\*TBEV, tick-borne encephalitis virus; NT, neutralization test; CSF, cerebrospinal fluid; Ig, immunoglobulin; ME, meningioencephalitis; pos, positive; bor, borderline; NA, not applicable; neg, negative.

The 4 domestic pigs kept at the alpine pasture and fed with the whey and goat milk, however, were seropositive (TBEV HI- and neutralizing antibodies detected), which indicated TBEV infection, but no clinical signs were observed. Infection with TBEV has been reported in wild boars (4,5). Serum samples from 105 goats from pastures in the neighborhood also were investigated for TBEV-specific antibodies; all goats were seronegative.

### Conclusions

Our analyses showed that the 6 humans and the 4 pigs were infected through the milk of 1 goat, which had been transported by car from a TBE-nonendemic valley to the alp 12 days before production of the TBEV-contaminated cheese. Experiments have demonstrated that infected domestic animals (i.e., goats, sheep, and cows) can excrete TBEV into milk for ≈3–7 days, beginning as early as the second or third day postinfection (6–9). In addition, although cheese was produced once or twice each week, only this ≈1-kg batch of cheese transmitted TBEV. Therefore, all the evidence indicates that the goat was infected at the alpine pasture at an altitude of 1,564 m. Indeed, some ticks were collected from cows that had stayed at this altitude during the entire summer. Analyses of these ticks for TBEV by PCR, however, yielded only negative results.

Our findings provide further evidence for the expansion of TBEV-endemic regions to higher altitudes in central Europe. For example, longitudinal studies in the Czech Republic, a country with similar climatic and ecologic conditions to those of Austria, showed a shift in *Ixodes ricinus* ticks and TBEV, from 700 m in 1981–1983 to 1,100 m altitude in 2001–2005 (10,11). Likewise, Zeman and Beneš demonstrated that the maximum altitude at which TBEV is found in the Czech Republic gradually moved upward

during 1970–2000, corresponding to the rise in temperature during the same period (12). In Scandinavia, a northward extension of the geographic range of *I. ricinus* ticks and TBEV since the mid-1980s has also been recognized (1,13–15). Climatic changes most likely are the major driving forces for the geographic changes in the distribution of TBEV and its main vector, *I. ricinus*, in Europe.

This report also emphasizes the efficiency of oral transmission of TBEV to humans and to pigs. Six of the 7 persons who ate the cheese and all 4 pigs fed residual milk or whey from the same cheese became infected. Given the excellent effectiveness of the TBE vaccine (2), vaccination probably could have prevented all 6 human cases.

### Acknowledgments

We thank Jutta Hutecek and Cornelia Stöckl for expert technical assistance and Gabriel O'Riordan for critical reading of the manuscript.

Dr Holzmann is a virologist at the Clinical Institute of Virology, Medical University of Vienna, Austria. Her research interests focus on flaviviruses, hepatitis C virus, and antiviral vaccines.

### References

- Lindquist L, Vapalahti O. Tick-borne encephalitis. *Lancet*. 2008;371:1861–71. DOI: 10.1016/S0140-6736(08)60800-4
- Heinz FX, Holzmann H, Essl A, Kundl M. Field effectiveness of vaccination against tick-borne encephalitis. *Vaccine*. 2007;25:7559–67. DOI: 10.1016/j.vaccine.2007.08.024
- Süss J. Epidemiology and ecology of TBE relevant to the production of effective vaccines. *Vaccine*. 2003;21(Suppl 1):S19–35. DOI: 10.1016/S0264-410X(02)00812-5
- Borčić B, Raos B, Kranzelić D, Abu Eldan J, Filipović V. The role of large wildlife in the maintenance of natural foci of tick-borne meningoencephalitis in northern Croatia. *Acta Med Jugosl*. 1990;44:399–406.

- Zeman P, Januska J. Epizootiologic background of dissimilar distribution of human cases of Lyme borreliosis and tick-borne encephalitis in a joint endemic area. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 1999;22:247–60. DOI: 10.1016/S0147-9571(99)00015-6
- Van Tongeren HA. Encephalitis in Austria. IV. Excretion of virus by milk of the experimentally infected goat. *Arch Gesamte Virusforsch*. 1955;6:158–62. DOI: 10.1007/BF01247065
- Gresiková M. Excretion of tick-borne encephalitis virus in the milk of subcutaneously infected cows. *Acta Virol*. 1958;2:188–92.
- Gresiková M. Recovery of the tick-borne encephalitis virus from the blood and milk of subcutaneously infected sheep. *Acta Virol*. 1958;2:113–9.
- Gresiková M, Rehacek J. Isolation of the tick encephalitis virus from the blood and milk of domestic animals (sheep and cow) after infection by ticks of the family *Ixodes ricinus* L. *Arch Gesamte Virusforsch*. 1959;9:360–4. DOI: 10.1007/BF01248828
- Daniel M, Danielová V, Kriz B, Kott I. An attempt to elucidate the increased incidence of tick-borne encephalitis and its spread to higher altitudes in the Czech Republic. *Int J Med Microbiol*. 2004;293(Suppl 37):55–62.
- Danielová V, Kliegrová S, Daniel M, Beneš C. Influence of climate warming on tickborne encephalitis expansion to higher altitudes over the last decade (1997–2006) in the Highland Region (Czech Republic). *Cent Eur J Public Health*. 2008;16:4–11.
- Zeman P, Beneš C. A tick-borne encephalitis ceiling in central Europe has moved upwards during the last 30 years: possible impact of global warming? *Int J Med Microbiol*. 2004;293(Suppl 37):48–54.
- Lindgren E, Gustafson R. Tick-borne encephalitis in Sweden and climate change. *Lancet*. 2001;358:16–8. DOI: 10.1016/S0140-6736(00)05250-8
- Skarpaas T, Ljøstad U, Sunday A. First human cases of tickborne encephalitis, Norway. *Emerg Infect Dis*. 2004;10:2241–3.
- Stjernberg L, Holmkvist K, Berglund J. A newly detected tick-borne encephalitis (TBE) focus in south-east Sweden: a follow-up study of TBE virus (TBEV) seroprevalence. *Scand J Infect Dis*. 2008;40:4–10. DOI: 10.1080/00365540701522934

Address for correspondence: Heidemarie Holzmann, Clinical Institute of Virology, Medical University of Vienna, Kinderspitalgasse 15, A-1095, Vienna, Austria; email: heidemarie.holzmann@meduniwien.ac.at

## 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. 10. 14	該当なし	
一般の名称	人赤血球濃厚液	Bondre VP, Sapkal GN, Yergolkar PN, Fulmali PV, Sankararaman V, Ayachit VM, Mishra AC, Gore MM. J Gen Virol. 2009 Nov;90(Pt 11):2644-9.	公表国	
販売名(企業名)	赤血球濃厚液-LR「日赤」(日本赤十字社) 照射赤血球濃厚液-LR「日赤」(日本赤十字社)	研究報告の公表状況	インド	
研究報告の要約	○インドで分離されたバガザウイルス(BAGV)の遺伝子学的特性と脳炎患者から採取した血清中抗BAGV抗体のエビデンス 1996年のインドのケララ州における脳炎アウトブレイクの調査時、コガタアカイエカのプールからアルボウイルスが分離された。補体結合検査により、日本脳炎とウエストナイルウイルスに交差反応を起こす可能性のあるアルボウイルスの特徴が明らかとなった。ブランクを精製したアルボウイルス分離株に対する過免疫血清を使用し、ブランク減少/中和検査を行った。血清は日本脳炎ウイルスで陽性を示さず、ウエストナイルウイルスで弱陽性であった。全ORF配列解析で、当該アルボウイルスはバガザウイルス(BAGV)の特徴を示した(アフリカのBAGV DakAr B209株とのヌクレオチド相同性94.80%)。疾患急性期の脳炎患者から採取した血清は、15%(8/53)がBAGV中和抗体陽性を示した。これは、インドで分離されたBAGVの初の報告である。抗BAGV中和抗体の存在は、人間集団がBAGVに暴露されていたことを示唆する。			使用上の注意記載状況・その他参考事項等
				赤血球濃厚液-LR「日赤」 照射赤血球濃厚液-LR「日赤」  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	1996年のインドのケララ州における脳炎アウトブレイク時に患者がバガザウイルスに感染していたことが判明したとの報告である。			
今後の対応	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。			

5

MedDRA/J Ver.12.0J

Short  
Communication

## Genetic characterization of Bagaza virus (BAGV) isolated in India and evidence of anti-BAGV antibodies in sera collected from encephalitis patients

Vijay P. Bondre,<sup>1</sup> Gajanan N. Sapkal,<sup>1</sup> Prasanna N. Yergolkar,<sup>2</sup> Pradip V. Fulmali,<sup>1</sup> Vasudha Sankararaman,<sup>1</sup> Vijay M. Ayachit,<sup>1</sup> Akhilesh C. Mishra,<sup>1</sup> and Milind M. Gore<sup>1</sup><sup>1</sup>National Institute of Virology, Pashan, Pune 411 021, India<sup>2</sup>National Institute of Virology, Bangalore Field Unit, Bangalore, IndiaCorrespondence  
Vijay P. Bondre  
vpbondre@yahoo.com or  
bondremp@nri.orgReceived 1 April 2009  
Accepted 30 June 2009

During investigations into the outbreak of encephalitis in 1996 in the Kerala state in India, an arbovirus was isolated from a *Culex tritaeniorhynchus* mosquito pool. It was characterized as a Japanese encephalitis and West Nile virus cross-reactive arbovirus by complement fixation test. A plaque reduction–neutralization test was performed using hyperimmune sera raised against the plaque-purified arbovirus isolate. The sera did not show reactivity with Japanese encephalitis virus and were weakly reactive with West Nile virus. Complete open reading frame sequence analysis characterized the arbovirus as Bagaza virus (BAGV), with 94.80% nucleotide identity with African BAGV strain DaKa/B209. Sera collected from the encephalitic patients during the acute phase of illness showed 15% (8/53) positivity for anti-BAGV neutralizing antibodies. This is the first report of the isolation of BAGV from India. The presence of anti-BAGV neutralizing antibodies suggests that the human population has been exposed to BAGV.

An outbreak of Japanese encephalitis (JE) was reported from the Alappuzza, Thiruvanthapuram and Kottayam districts of Kerala state, India during 1996. Only 33% (50/150) of the sera collected from hospitalized cases were confirmed as JE by immunoglobulin M (IgM) ELISA. Other clinical specimens were not available for further investigations. Entomological investigations during the outbreak were carried out and 184 mosquito pools collected from the affected area were processed for isolation in 2-day-old Swiss mice by the intra-cranial route (Rodrigues *et al.*, 1980; George *et al.*, 1984). One pool from *Culex tritaeniorhynchus* showed sickness in inoculated mice. Brains from sick mice were harvested and suspended in 10% bovalbumin phosphate saline. The suspensions were stored at –70 °C and designated as the arbovirus isolate (96363). The isolate showed cross-reactivity with anti-JE virus (JEV) and anti-West Nile virus (WNV) immune sera in a complement fixation (CF) test (Pavri & Ghosh, 1969; Rodrigues *et al.*, 1980; Darnle *et al.*, 1998).

The GenBank/EMBL/DBJ accession number of the Indian Bagaza virus isolate sequenced in this paper is EU684972.

A supplementary figure showing the phylogenetic analysis of BAGV based on nucleocapsid membrane, non-structural (NS) 1, NS2, NS3, NS4 and NS5 gene sequences is available with the online version of this paper.

plaque reduction neutralization test (PRNT) and genetic characterization studies were performed using the PS-amplified arbovirus stocks. Since the CF test characterized the isolate as a JEV and WNV cross-reactive arbovirus, PRNTs were performed to determine the antigenic relationship among these viruses. An *in vitro* neutralization test was carried out using PS-adapted JEV (strain 733913), WNV (strain 804994) and the arbovirus isolate (strain 96363), as described previously (Bondre *et al.*, 2007). The threefold-diluted hyperimmune sera were mixed with 100 p.f.u. of each virus and the infectivity was determined in PS cells. The serum dilution showing 80% plaque reduction (ND<sub>80</sub>) was considered as a neutralizing end point. As shown in Table 1, the highest neutralizing activity was observed with homologous sera. In heterologous neutralization between the arbovirus isolate and WNV, both viruses showed cross-reactivity with each other, although this was weaker than the homologous neutralization. The JEV-specific hyperimmune sera did not neutralize the arbovirus isolate, even at a dilution of 1:5.

As the CF test characterized the 96363 isolate as a JEV- and WNV-reactive arbovirus and the heterologous neutralization showed that it had weak reactivity with WNV, we genetically characterized the isolate. A 1050 nt fragment from the NS5 region of the sample was amplified by RT-PCR using flavivirus-specific universal primers that amplify the partial NS5 fragment from a number of flaviviruses (Kuno, 1998). The genomic RNA of plaque-purified arbovirus grown in PS cells was isolated using QIAamp viral RNA kit (Qiagen) according to the manufacturer's protocol. The RT-PCR amplification was carried out as described by Kuno *et al.* (1998) and the amplified product was sequenced as described previously (Bondre *et al.*, 2007). BLAST analysis showed 99.90% nucleotide identity (PNI) with African Bagaza virus (BAGV) strain DakAr B209, followed by 95 PNI with Israel turkey meningoencephalitis virus (ITMV). RT-PCR amplification and complete genome sequencing of BAGV-India was achieved by using overlapping primers designed by aligning available flavivirus sequences from GenBank with CLUSTAL\_X 1.83 software (Thompson *et al.*, 1997). RT-PCR amplification of overlapping genomic fragments was carried out as described

**Table 1.** Homologous and heterologous cross-neutralization test using hyperimmune sera against JEV, WNV and arbovirus (BAGV) isolates

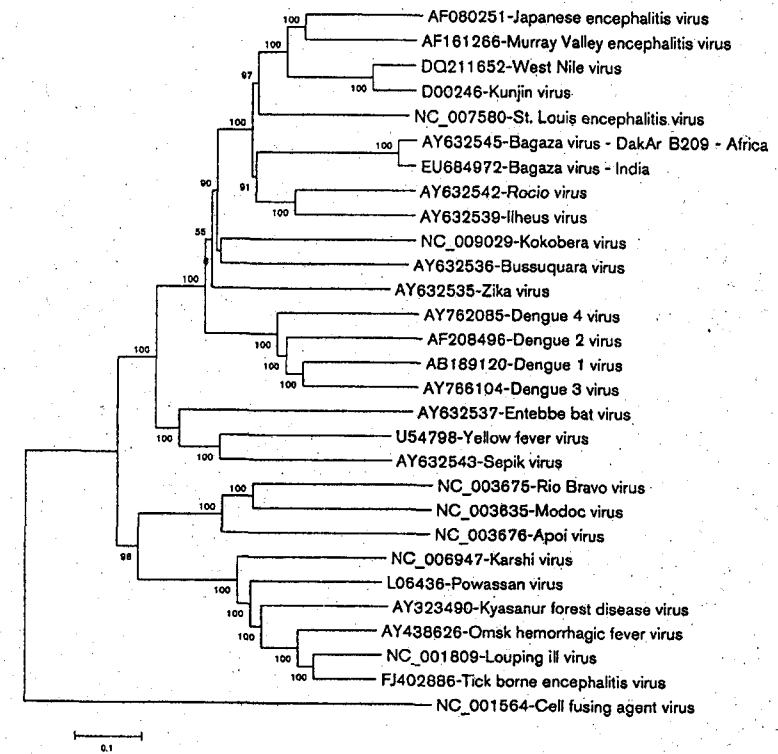
Serum giving 80% plaque reduction was considered to be at the neutralizing end point. ND<sub>80</sub> values are given.

Virus strain	Hyperimmune sera against:		
	JEV (733913)	WNV (804994)	BAGV (96363)
JEV	501	5	<5
WNV	<5	239	31
BAGV	<5	21	67

previously (Bondre *et al.*, 2007). PCR products were column-purified (QIAquick PCR purification kit; Qiagen) and both strands were sequenced by using a Big Dye Terminator cycle sequencing ready reaction kit (Applied Biosystems) and an automated Sequencer (ABI Prism 310 Genetic Analyzer). A 10281 nt genomic sequence of BAGV-India (GenBank accession no. EU684972) coding a 3426 aa complete open reading frame (ORF) was obtained. Multiple alignments of nucleotide sequences were carried out by using CLUSTAL\_X 1.83. The phylogenetic analysis of the complete genome sequence of BAGV-India was assessed by using MEGA (Tamura *et al.*, 2007). For analysis in MEGA, Jukes-Cantor and nucleotide maximum composite likelihood models were utilized, employing the neighbour-joining algorithm. The topologies generated in the neighbour-joining algorithm were confirmed by using the maximum-likelihood method, as implemented in the software Treefinder 2008, with the gamma-distributed rate variation with four rate categories (HKY+ $\gamma$ ) model of nucleotide substitution (Jobb *et al.*, 2004). The reliability of different phylogenetic groupings was evaluated by using the bootstrap test (1000 bootstrap replications). The genetic distance between different viruses was obtained by using the *P*-distance model in MEGA. Phylogenetic trees were constructed by using the complete genomic sequence of the Indian BAGV isolate (this study) and complete genomic sequences (from GenBank) of representative strains from different genomic groups in the *Flaviviridae*. Similarly, phylogenetic analysis of genomic fragments encoding different proteins – nucleocapsid, pre-membrane and membrane, envelope and non-structural (NS) proteins 1–5 – was carried out to understand the relationship between African and Indian BAGV isolates and other flaviviruses.

Comparative analysis of both the Indian and African (AY632545) BAGV complete ORF coding nucleotide sequences showed 94.8 (PNI). The difference of 515 nt (5.2%) resulted in 77 aa (2.24%) differences throughout the ORF of Indian and African (DakAr B209) BAGV isolates (Kuno & Chang, 2007). A difference of 20 aa was documented in the structural protein coding region (14 nt in the nucleocapsid with 2 aa differences, 40 nt in the membrane with 13 aa and 73 nt in the envelope with 5 aa), while a difference of 57 aa was documented in the NS protein coding region (71 nt in the NS1 region with 8 aa differences, 50 nt in the NS2 region with 7 aa, 95 nt in the NS3 region with 9 aa, 48 nt in the NS4 region with 19 aa and 119 nt in the NS5 region with 14 aa). Additionally, compared with BAGV-DakAr B209, one deletion (at nt 7424) and four additions (nt 7438–7439, 7444 and 7463) were documented in the NS4B region of BAGV-India.

Phylogenetic analysis using the complete sequence of the Indian BAGV ORF showed that this sequence had a close genetic relationship with the African BAGV-DakAr B209 strain and clustered together with the *Culex* mosquito-transmitted clade on the phylogram (Fig. 1). Similar tree topologies were obtained with both models (Jukes-Cantor and maximum composite likelihood) that were used to



**Fig. 1.** Phylogenetic analysis of the BAGV complete ORF sequence using the nucleotide maximum composite likelihood model of the neighbour-joining algorithm. Cell fusing agent virus was used as an outgroup in phylogenetic analysis. GenBank accession numbers are given on the figure. Numbers at the nodes indicate bootstrap support for each node. Bar, nt substitutions per site.

construct the complete ORF sequence based on the phylogenetic tree obtained by using the neighbour-joining algorithm. The phylogenetic analysis of individual gene sequences coding for nucleocapsid, membrane, NS1, NS2, NS3 and NS4 showed similar tree topologies, which were comparable with complete genome sequence-based analysis (Supplementary Fig. S1, available in JGV Online). The PNI using nucleocapsid and membrane coding gene sequences of Indian and African BAGV isolates was  $96.00 \pm 1.25$  and  $92.30 \pm 1.20$ , respectively. Analysis of the NS proteins NS1, NS2, NS3 and NS4 of both the BAGV isolates showed  $94.40 \pm 0.70$ ,  $95.10 \pm 0.60$ ,  $95.20 \pm 0.50$  and  $95.80 \pm 0.60$  PNI, respectively. A number of previous phylogenetic studies on flaviviruses mostly attempted to use envelope coding sequences. We also determined the genetic

relationship of BAGV-India using the additional envelope sequences of representative members from different *Flaviviridae* groups. In envelope sequence-based analysis, BAGV-India grouped together with the African DakAr B209 strain ( $95.90 \pm 0.80$  PNI) along with other members of the Ntaya virus group of the *Flaviviridae* (Fig. 2). Envelope sequence analysis of the African BAGV strain (AF372407; Gaunt *et al.*, 2001) showed that it had a closer relationship ( $99.00 \pm 0.40$  PNI) with DakAr B209 strain than BAGV-India ( $94.80 \pm 1.70$  PNI). Among other members of the Ntaya virus group, ITMV showed a close relationship ( $93.40$ – $95.50$  PNI) with all three BAGV strains, followed by a more distant relationship with Ntaya virus ( $76.00$ – $77.00$  PNI) and Tembusu virus ( $74.00$ – $75.00$  PNI). As partial NS5 sequences from additional

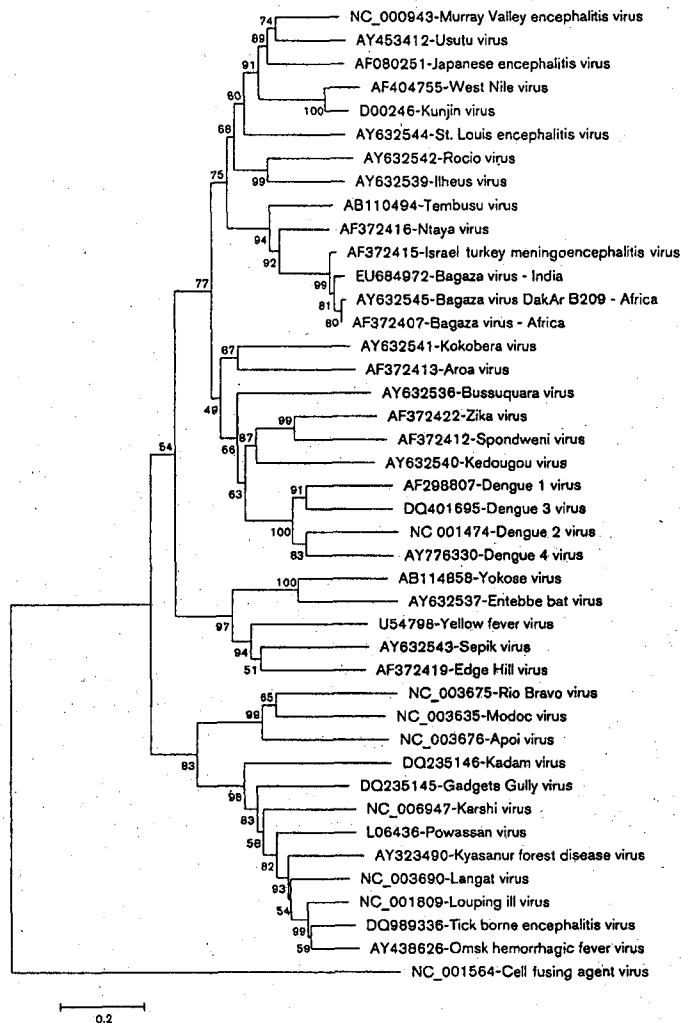


Fig. 2. Phylogenetic analysis of BAGV based on partial envelope sequences. The tree was constructed by using MEGA, by the neighbour-joining with nucleotide maximum composite likelihood model. Bootstrap confidence level (1000 replicates) and a confidence probability value based on the standard error test were calculated using MEGA and are indicated at the nodes. Partial envelope sequences of additional viruses (where complete genome sequences were not available) were used in the phylogenetic analysis. Cell fusing agent virus was used as an outgroup in phylogenetic analysis. GenBank accession numbers are given on the figure. Numbers at the nodes indicate bootstrap support for each node. Bar, nt substitutions per site.

members of the *Flaviviridae* were available in GenBank, we performed separate analysis to determine the genetic relationship of BAGV-India with these viruses (data not shown). With NSS analysis, both the BAGV sequences grouped together, with  $99.90 \pm 0.10$  PNI, in the Ntaya virus group. However, in NSS sequence analysis, the nucleotide identities of BAGV and other members of the Ntaya virus group were comparable with envelope sequence analysis. BAGV DakAr B209 and Indian strains showed 95.20–95.30 PNI with ITMV, 76.50–76.60 PNI with Ntaya virus and 75.10–75.30 PNI with Tembusu virus.

We documented one nucleotide insertion and four nucleotide deletions in the complete ORF sequence of Indian and African BAGV strains. The envelope sequence analysis of an additional BAGV strain from Africa indicates a closer genetic relationship with BAGV DakAr B209 than the Indian BAGV strain. These data indicate independent circulation of both the African and Indian isolates in different geographical areas. Although the time and mode of introduction of BAGV in India is unknown, we hypothesize that it may represent a genetic variant of the BAGV strain which originated in the African continent and was dispersed and established in areas with similar climatic conditions and favouring vector multiplication. Dispersal of the flaviviruses from the Old World to the New World and the co-existence of related viruses sharing antigenic, host and vector similarities have been supported by molecular phylogenetic analyses (Sabin, 1959; Gaunt *et al.*, 2001; Chevalier *et al.*, 2004; Mackenzie *et al.*, 2004; Petersen & Marfin, 2005; Gould *et al.*, 2006). However, to determine the precise genetic relationship, geographical origin and epidemiology, full genome sequence data of more strains will be helpful.

We isolated BAGV from a mosquito pool collected during a JE outbreak and studied its genetic relationship with other *Flaviviridae*. Since it was characterized as a JEV and WNV cross-reactive arbovirus (CF test), we determined the antigenic relationship with JEV and WNV by PRNT. Although the heterologous neutralization differentiated these as three distinct arboviruses, we documented weak cross-reactivity between WNV and BAGV (Table 1). The genetic relatedness of BAGV and WNV in several genomic regions might be the reason for antigenic cross-reactivity between these viruses (Kuno & Chang, 2007). We determined the previous exposure of hospitalized encephalitis patients with BAGV by analysing the sera stored at  $-80^\circ\text{C}$  for anti-BAGV neutralizing antibodies. The neutralization assay was performed with PS cell-adapted BAGV pools, as described previously (Bondre, *et al.*, 2007; Sapkal *et al.*, 2007). Only 15% (8/53) of available sera showed reactivity with BAGV, while 24.14% (14/53) were reactive with JEV (733913). Both the anti-JEV and anti-BAGV neutralizing antibody titres (ND<sub>80</sub>) were in the range of 50–1250. All of the BAGV reactive sera were negative for JEV by IgM ELISA.

Recently, BAGV has been identified as one of the emerging and re-emerging human pathogens that causes febrile

illness in humans (Woolhouse *et al.*, 2006). It belongs to the Ntaya group of *Flaviviridae* and has been isolated in the Central African Republic, Cameroon and Senegal, where it circulates between ornithophilic mosquitoes and birds (Digoutte, 1978; Traore-Lamizana *et al.*, 1994; Diallo *et al.*, 2005). It is genetically related to ITMV, which is a serious avian pathogen in the Middle East and southern Africa (Digoutte, 1978; Kuno *et al.*, 1998). The phylogenetic studies using envelope and NS5 sequences clearly suggest that there is a close genetic relationship between ITMV and BAGV. Other members of the Ntaya virus group are genetically distinct from BAGV and ITMV. Our preliminary findings on sera collected during the acute phase of illness from hospitalized patients indicates the presence of anti-BAGV neutralizing antibodies. This suggests that BAGV might be circulating in the area between ornithophilic mosquitoes and birds and incidentally the human population might be exposed to it. These observations need to be strengthened by investigating additional human clinical specimens from the region. However, our preliminary observations need to be confirmed by systematic study of the human population from the Allapuzza, Thiruvanthapuram and Kottayam districts of Kerala to understand the association of BAGV with human infections.

In conclusion, this study indicates the necessity of serious efforts to investigate the likely involvement of BAGV in sporadic human infections and outbreaks in other vertebrates occurring in the region. This can be achieved by developing BAGV-specific serological and molecular diagnostics for testing of human clinical specimens collected from the region. Additional studies addressing the potential of various mosquito species as vectors and birds as amplifying hosts, and sero-surveillance in domestic animals and the human population will add to our understanding of the epidemiology of arboviral diseases.

## Acknowledgements

We thank staff members of NIV Field Unit, Bangalore, who were involved in virus isolation. The authors are thankful to Ms Aparna Chavare for her technical assistance. Financial support by the Indian Council of Medical Research, to V. P. B. (project no. 08/02), is greatly appreciated.

## References

- Bondre, V. P., Jadh, R. S., Mishra, A. C., Yergolkar, P. N. & Arankalle, V. A. (2007). West Nile virus isolates from India: evidence for a distinct genetic lineage. *J Gen Virol* 88, 875–884.
- Chevalier, V., de la Rocque, S., Baldet, T., Vial, L. & Roger, F. (2004). Epidemiological processes involved in the emergence of vector-borne diseases: West Nile fever, Rift Valley fever, Japanese encephalitis and Crimean-Congo haemorrhagic fever. *Rev Sci Tech* 23, 535–555.
- Damle, R. G., Yeolekar, L. R. & Rao, B. L. (1998). Strain analysis and epitope mapping of West Nile virus using monoclonal antibodies. *Acta Virol* 42, 389–395.
- Diallo, M., Nabeth, P., Ba, K., Sali, A. A., Ba, Y., Mondo, M., Girault, L., Abdalali, M. O. & Mathlot, C. (2005). Mosquito vectors of the 1998–



1999 outbreak of Rift Valley Fever and other arboviruses (Bagaza, Senar, Wasselaton and West Nile) in Mauritania and Senegal. *Med Vet Entomol* 19, 119-126.

Dipolito, J.P. (1978). Bagaza (BAG) strain: *Dak Act B* 209. *Am J Trop Med Hyg* 27, 376-377.

Gaunt, M. W., Sall, A. A., de Lamballerie, X., Falconar, A. K., Dharmawan, T. I. & Gould, E. A. (2001). Phylogenetic relationships of flaviviruses correlate with their epidemiology, disease association and biogeography. *J Gen Virol* 82, 1867-1876.

George, S., Gounle-Dewi, M., Rao, J. A., Prasad, S. R. & Paul, K. M. (1994). Isolation of West Nile virus from the brains of children who had died of encephalitis. *Bull World Health Organ* 62, 879-882.

Gould, E. A., Higgs, S., Buckley, A. & Gritsun, T. S. (2006). Potential arbovirus emergence and implications for the United Kingdom. *Emerg Infect Dis* 12, 549-555.

Jobb, G., von Heeseler, A. & Strimmer, K. (2004). TREMPER: a powerful graphical analysis environment for molecular phylogenetics. *BMC Evol Biol* 4, 18.

Kuno, G. (1999). Universal diagnostic RT-PCR protocol for arboviruses. *J Virol Methods* 72, 27-41.

Kuno, G. & Chang, G. J. (2007). Full-length sequencing and genomic characterization of Bagaza, Kedougou, and Zika viruses. *Arch Virol* 152, 687-696.

Kuno, G., Chang, G.-J., Tsuchiya, K., Karabatsos, N. & Cropp, B. C. (1998). Phylogeny of the genus *Flavivirus*. *J Virol* 72, 73-83.

Mackenzie, J. S., Gubler, D. J. & Petersen, L. R. (2004). Emerging flaviviruses: the spread and resurgence of Japanese encephalitis, West Nile and dengue viruses. *Nat Med* 10, 598-609.

Paul, S. D., Narasimha Murthy, D. P. & Das, M. (1970). Isolation of West Nile virus from a human case of febrile illness. *Indian J Med Res* 58, 1177-1179.

Paul, K. M. & Ghosh, S. N. (1989). Complement-fixation tests for simultaneous isolation and identification of Dengue viruses, using tissue cultures. *Bull World Health Organ* 40, 984-986.

Petersen, L. R. & Martin, A. A. (2005). Shifting epidemiology of *Flaviviridae*. *J Travel Med* 12, S3-S11.

Rodrigues, F. M., Bhatti Singh, P., Dandawate, C. N., Soman, R. S., Gutiker, S. N. & Kaul, H. N. (1980). Isolation of Japanese encephalitis and West Nile viruses from mosquitoes collected in Andhra Pradesh. *Indian J Parasitol* 4, 149-153.

Sabin, A. B. (1959). Survey of knowledge and problems in field of arthropod-borne virus infections. *Arch Gesamte Virusforsch* 9, 1-10.

Sapkai, G. N., Waingekar, N. S., Ayschit, V. M., Bondre, V. P. & Gore, M. M. (2007). Detection and isolation of Japanese encephalitis virus from blood clots collected during the acute phase of infection. *Am J Trop Med Hyg* 77, 1139-1145.

Tamura, K., Dudley, J., Nei, M. & Kumar, S. (2007). MECCA: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MECA) software version 4.0. *Mol Biol Evol* 24, 1596-1599.

Thompson, J. D., Gibson, T. J., Plewniak, F., Jeanmougin, F. & Higgins, D. G. (1997). The CLUSTAL\_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucl Acid Res* 25, 4876-4882.

Tsao-Lamizana, M., Zeller, H. G., Mondo, M., Henry, J. P. & Digoutte, A. J. (1994). Isolations of West Nile and Bagaza viruses from mosquitoes (*Cyprer, Culicoides*) in central Senegal (Fatick). *J Med Entomol* 31, 934-938.

Woolhouse, M. E. J., Gouwsage-Sequeira, S. & Evans, B. (2006). Title: quantitative analysis of the characteristics of emerging and re-emerging human pathogens. Available at: [www.foreight.gov.uk](http://www.foreight.gov.uk) Accessed 19 November 2007.

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
一般的名称	人赤血球濃厚液	2009. 10. 7	該当なし	
販売名(企業名)	赤血球濃厚液-LR「日赤」(日本赤十字社) 照射赤血球濃厚液-LR「日赤」(日本赤十字社)	研究報告の公表状況	公表国 米国	
研究報告の概要	<p>○血液および血漿供血者の血漿中のウエストナイルウイルス感染(アメリカ合衆国) 2003~2008年に供給された米国の血漿由来静注用免疫グロブリン製剤(IGIV)中のウエストナイルウイルス(WNV)中和抗体価と最近の感染との関連を検討した。抗体価は供血者のWNV既感染率と密接に相関し、2008年ロットから既感染率は1%と推定された。</p> <p>血漿由来IGIV製剤と、NATによる感染確定後の供血者由来血漿検体の中和抗体価を、古典的マイクロ中和試験により測定した。供血血液のWNVスクリーニング結果から1999年から2008年の各年における平均WNV感染数を算出した。米国疾病対策センターに報告された神経侵襲性症例数から推定し、その年の累積感染率を求めた。</p> <p>IGIVのWNV中和抗体価は2003年から急速に増加し始めた。WNVスクリーニング結果から、2003年までに米国の人口の0.5%がWNVに感染したと推定された。米国の人口における既感染者の推定数は、IGIVの抗体価と平行して増加していた。2008年に出荷されたロットでは、中和抗体価は2.8~69.8、平均±SEMは21±1(n=256)であった。NATでWNV感染が確定した人から得られた血漿ではさらに抗体価が高く、検査した30名で平均±SEMは208±40となった。また、これらの結果から、米国の人口の1%が既にWNVに感染したと推定された。</p> <p>米国の血漿由来IGIV製剤中の中和抗体価は上昇しており、特にWNV既感染供血者の抗体価が高いことから、WNVの予防や治療を目的としたIGIV製剤製造の可能性が示唆される。</p>			<p>使用上の注意記載状況・その他参考事項等</p> <p>赤血球濃厚液-LR「日赤」 照射赤血球濃厚液-LR「日赤」</p> <p>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</p>
報告企業の意見	今後の対応			
2003~2008年に供給された米国の血漿由来静注用免疫グロブリン製剤中のウエストナイルウイルス(WNV)中和抗体価と最近の感染との関連を検討したところ、抗体価は供血者のWNV既感染率と密接に相関し、2008年ロットから既感染率は1%と推定されたとの報告である。	<p>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、ウエストナイルウイルス感染の国内発生に備え、平成17年10月25日付血液対策課発事務連絡に基づき緊急対応の準備を進めているほか、厚生労働科学研究「献血血の安全性確保と安定供給のための新興感染症等に対する検査スクリーニング法等の開発と献血制限に関する研究」班と共同して対応について検討している。今後も引き続き情報の収集に努める。</p>			

⑥

# West Nile Virus Infection in Plasma of Blood and Plasma Donors, United States

Christina B. Planitzer, Jens Modrof, Mei-ying W. Yu, and Thomas R. Krell

This study investigated the association of ongoing West Nile virus (WNV) infections with neutralizing antibody titers in US plasma-derived intravenous immune globulin released during 2003–2008. Titers correlated closely with the prevalence of past WNV infection in blood donors, with 2008 lots indicating a prevalence of 1%.

West Nile virus (WNV) is a flavivirus endemic to the United States; typically, hundreds of clinical cases of infection occur each year. The observed number of clinical WNV infections as collated by ArboNET ([www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)) and the incidence of asymptomatic WNV infections as shown by nucleic acid testing (NAT) of the US blood supply (1) indicate that ≈3 million WNV infections occurred in humans during 1999–2008.

Because the immune system elicits WNV neutralizing antibodies in response to WNV infection, detectable levels of WNV neutralizing antibodies in the blood of persons with previous WNV infection is expected. Consequently, lots of immune globulin-intravenous (human) (IGIV) manufactured from plasma collected in the United States contain WNV neutralizing antibodies (2). Those IGIV lots, each prepared from several thousand plasma donations to ensure a broad spectrum of antibodies, can be used as an epidemiologic tool that enables the surveillance of thousands of persons in a community through analysis of comparatively few samples. In this study, we demonstrated the increasing trend of WNV-neutralizing antibody titers in lots of IGIV.

Comparing these titers with those of persons with confirmed past WNV infection provides an independent measure of the percentage of the US population previously infected with WNV. Several WNV vaccine trials are ongoing or imminent, so information about the prevalence of past WNV infection in the United States is valuable for

Author affiliations: Baxter Bioscience, Vienna, Austria (C.B. Planitzer, J. Modrof, T.R. Krell); and US Food and Drug Administration, Bethesda, Maryland, USA (M.-y.W. Yu).

DOI: 10.3201/eid1510.080711

planning the demonstration of vaccine efficacy. Low incidence and lack of highly WNV-endemic areas in the United States preclude classic vaccine field trials because of study size requirements and cost-logistics difficulties.

## The Study

The WNV neutralization titers of several US plasma-derived IGIV products (Gammagard Liquid/KIOVIG; Gammagard S/D/ Polygraft S/D; Iivegam EN [Baxter Healthcare Corporation, Westlake Village, CA, USA]) and plasma samples obtained from US blood donors after a NAT-confirmed WNV infection were determined by an infectivity assay as earlier described (2), adapted to a classical microneutralization format (3). WNV neutralization titers (i.e., the reciprocal dilution of a 1:2 series resulting in 50% neutralization [NT<sub>50</sub>]; detection limits <0.8 for undiluted IGIVs and <7.7 for 1:10 prediluted serum) are reported as the mean ± SEM. An unpaired *t* test was used to evaluate whether titer differences between 2 groups were statistically significant.

Using an extrapolation derived from screening the US blood supply for WNV (1), we calculated the average annual number of WNV infections in the United States for 1999–2008. The total number of neuroinvasive cases reported for those years to the US Centers for Disease Control and Prevention (CDC) through ArboNET was multiplied by 256 (i.e., the factor between all WNV infections and neuroinvasive cases). The cumulative infection rate for each year during 1999–2008 was then calculated by dividing the infections occurring up to a specific year by the US population for that year (determined by US Census Bureau estimates [[www.census.gov/popest/states/NST-ann-est.html](http://www.census.gov/popest/states/NST-ann-est.html)]).

Although WNV was first introduced into the United States in 1999, only in 2003 did the mean WNV neutralization titers of IGIV lots released to the market start to increase markedly (Figure 1). According to extrapolations from the WNV screening of the US blood supply (1), by 2003, an estimated 0.5% of the US population had been infected with WNV, although most infections were asymptomatic.

A delay of ≈1 year occurs between the collection of plasma and the release of IGIV lots to the market; thus, the WNV-positive IGIV lots in 2003 reflect the larger number of WNV infections occurring in 2002. Using the same extrapolations from the US blood supply (1), we found that the ≈0.1% annual increments in the proportion of the US population with past WNV infection follow a straight line ( $r^2 = 0.9996$ ), generally paralleled by the mean WNV neutralization titers of IGIV lots. During 2005–2008, when large numbers of lots of a single IGIV product (Gammagard Liquid) could be analyzed, the WNV neutralization titer increased by 3.6 per year ( $r^2 = 0.9793$ ).

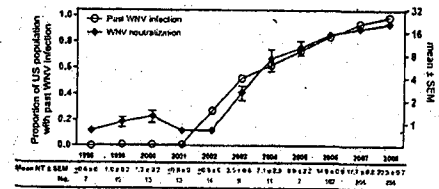


Figure 1. West Nile virus (WNV) neutralization titers of US plasma-derived immune globulin intravenous (human) (IGIV) lots by year of production and estimated percentage of the US population with past WNV infection by year. WNV neutralization titers were determined either for retention or lot release samples of 3 IGIV products produced during 1998–2005 or for a considerable proportion of Gammagard Liquid/KIOVIG lots produced during 2006–2008. Results are shown as mean ± SEM (limit of detection <0.8) by year of product release. For 5% of IGIV samples, titers were multiplied by 2 for comparison with the 10% IGIV samples at equivalent immunoglobulin concentrations. The percentage of the US donor population with past WNV infection was calculated from the number of neuroinvasive cases reported per year and the estimated ratio of neuroinvasive cases to total cases of WNV infection.

US plasma-derived IGIV lots released during 2008 showed variable WNV neutralization titers ranging from 2.8 to 69.8; mean ± SEM titer was  $21 \pm 1$  ( $n = 256$ ) (Figure 2). Compared with titers shown to be protective in an animal model of WNV infection (equivalent to >21 by the current assay) (2), ≈40% of the 2008 IGIV lots had higher titers.

Plasma obtained from persons with NAT-confirmed WNV infection had even higher titers; mean ± SEM titer was  $208 \pm 40$  for 30 persons available for testing. When results were corrected for the immunoglobulin (Ig) G concentration in plasma (≈1%), compared with the 10% IGIV preparations, the mean neutralization titer of the plasma samples was ≈100× higher than that of the IGIV lots tested (2,080 vs. 21).

## Conclusions

The most comprehensive collation of information about the incidence of WNV infection in the United States is available from ArboNET. When that information is combined with information obtained from the nationwide screening of the blood supply for WNV RNA by NAT (1,4,5), the current prevalence of past WNV in the US population is estimated to be ≈1%.

Busch et al. has noted that large-scale, community-based serologic surveys are hardly feasible because of their expense and because WNV ELISA assays are possibly biased by cross-reactions with other flaviviruses (1). Nevertheless, 7 seroepidemiologic studies have been performed

(6–12). Cumulatively, 5,503 persons were tested for WNV infection by ELISA, and the results have shown highly divergent seroprevalence rates ranging between 1.9% (6) and 14.0% (10).

The use of IGIV lots, each representing the serostatus of several thousand donors in 1 sample, makes seroepidemiology practical (13) because it allows a large donor population to be surveyed by analyzing comparably few samples. The use of a more complex yet functional virus neutralization assay minimizes concerns about cross-reactivity with flaviviruses of other serocomplexes (e.g., dengue virus) that occasionally circulate in the US population. Also, epidemiologic considerations render interference by St. Louis encephalitis virus, a flavivirus within the same serocomplex, highly unlikely (2). The specificity of the neutralization assay was confirmed by testing IGIV lots manufactured from European-derived plasma against tick-borne encephalitis virus, a flavivirus closely related to WNV and circulating in Europe. Although these lots contained high neutralization titers against tick-borne encephalitis virus, only 1 of 20 had a detectable neutralization titer of 5 against WNV (unpub. data).

In this study, we determined that the mean titer of samples obtained during 2003–2008 from persons with a confirmed diagnosis of WNV infection was 100× higher than the mean titers of IGIV lots produced in 2008. This determination provides an independent experimental measure of the frequency of past WNV infection in the general US population, as reflected by the plasma/blood donor community, and the results correlate well with results of previously published theoretical extrapolations (1), which estimated that ≈1% of the population has already been infected with WNV.

The increasing levels of WNV neutralizing antibodies in IGIV lots from US plasma and the particularly high

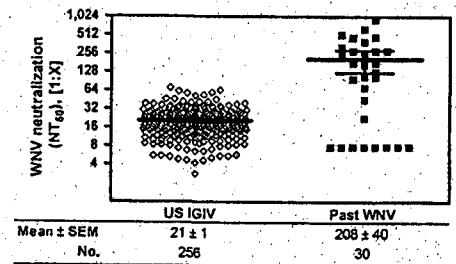


Figure 2. West Nile virus (WNV) neutralization by US plasma-derived immune globulin intravenous (human) (IGIV) released in 2008 and plasma from donors with past WNV infection (past WNV), confirmed by nucleic acid testing. WNV neutralization titers are shown as the mean ± SEM (limit of detection <0.8 for undiluted IGIVs and <7.7 for prediluted sera). NT<sub>50</sub>, 50% neutralization titer.



tiers in donors who have had a WNV infection suggest the possibility of preparing IGIV products with sufficiently high titers to be useful for WNV prophylaxis or treatment. Several ongoing or imminent WNV vaccine clinical trials stress the practical value of an independent confirmation of extrapolations that estimate the percentage of the US population with past WNV infection. Knowing the percentage of preexisting WNV seroprevalence as well as estimates of the mostly asymptomatic incidence rates (14) can be of vital importance in designing vaccine trials.

**Acknowledgments**

P. Noel Barrett and Don A. Baker are acknowledged for providing unconditional support and strategic vision for the project reported. We are also indebted to John S. Finlayson for critical review of this manuscript. Critical reagents have been generously provided by Susan L. Stramer and Robert E. Shope.

Ms Planitzer is writing her PhD thesis on virus antibodies in immune globulins at the Global Pathogen Safety Group of Baxter BioScience in Vienna, Austria, in collaboration with the Medical University of Vienna, Austria. Her research focuses on determining functional antiviral properties of immunoglobulin preparations.

**References**

1. Busch MP, Wright DJ, Carter B, Tobler LH, Stramer SL, Kleinman SH, et al. West Nile virus infections projected from blood donor screening data, United States, 2003. *Emerg Infect Dis* 2006;12:395-402.
2. Planitzer CB, Madoff J, Kreil TR. West Nile virus neutralization by US plasma-derived immunoglobulin products. *J Infect Dis* 2007;196:933-40. DOI: 10.1093/infdis/jni152
3. Ehrlich HJ, Muller M, Oh HM, Tambyah PA, Joutkhaider C, Montomoli E, et al. A clinical trial of a whole-virus H5N1 vaccine derived from cell culture. *N Engl J Med* 2008;358:2373-84. DOI: 10.1056/NEJMoa073121
4. Busch MP, Caglioti S, Robertson EF, McAuliffe JD, Tobler LH, Kneel H, et al. Screening the blood supply for West Nile virus RNA by nucleic acid amplification testing. *N Engl J Med* 2005;353:460-7. DOI: 10.1056/NEJMoa044029

5. Stramer SL, Fong CT, Foster GA, Wagner AG, Brodsky JP, Dodd RY. West Nile virus among blood donors in the United States, 2003 and 2004. *N Engl J Med* 2005;353:451-9. DOI: 10.1056/NEJMoa044333
6. Mandalakas AM, Kippes C, Sedranek J, Kile JR, Garg A, McLeod J, et al. West Nile virus epidemic, northeast Ohio, 2002. *Emerg Infect Dis* 2005;11:1774-7.
7. Meyer TE, Bull LM, Cain HK, Pascoe RF, Travassos da Rosa A, Gutierrez CR, et al. West Nile virus infection among the homeless, Houston, Texas. *Emerg Infect Dis* 2007;13:1500-3. PMID: 18257995
8. Schweitzer BK, Kramer WL, Samboli AR, Meza JJ, Hinrichs SH, Iwen PC. Geographic factors contributing to a high seroprevalence of West Nile virus-specific antibodies in humans following an epidemic. *Clin Vaccine Immunol* 2006;13:314-8. DOI: 10.1128/CVI.13.3.314-318.2006
9. Schellensberg TL, Anderson ME, Dietrich MA, Yeoght MT, Findlater AR, Curry PS, et al. Seroprevalence of West Nile virus in Saskatchewan's Five Hills Health Region, 2003. *Can J Public Health* 2006;97:368-73.
10. Murphy TD, Grandjeu J, Novick SL, Sgys SA, Harris RW, Masgrave K. West Nile virus infection among health-fair participants, Wyoming 2003: assessment of symptoms and risk factors. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2005;5:246-51. DOI: 10.1089/vbz.2005.5.246
11. Mostashari F, Bunning ML, Kistner PT, Singer DN, Nash D, Cooper MJ, et al. Epidemic West Nile encephalitis, New York, 1999: results of a household-based seroepidemiological survey. *Lancet* 2001;358:261-4. DOI: 10.1016/S0140-6736(01)56880-0
12. Michaels SR, Balsman GA, Kuderja M, Anderson C, Straif-Bourgeois S, Taitel G, et al. Surveillance for West Nile virus cases in Louisiana 2001-2004. *J La State Med Soc* 2005;157:265-72.
13. Audet S, Virata-Thiemer ML, Beeler JA, Scott DE, Frazer DJ, Mikolajczyk MG, et al. Measles-virus-neutralizing antibodies in intravenous immunoglobulins. *J Infect Dis* 2006;194:781-9. DOI: 10.1086/506363
14. Sarnaul MA, Diamond MS. Pathogenesis of West Nile virus infection: a balance between virulence, innate and adaptive immunity, and viral evasion. *J Virol* 2006;80:9349-60. DOI: 10.1128/JVI.01122-06

Address for correspondence: Thomas R. Kreil, Baxter BioScience, Benzoylgasse 2-6, A-1221 Vienna, Austria; e-mail: thomas\_kreil@baxter.com

Use of trade names is for identification only and does not imply endorsement by the Public Health Service or by the U.S. Department of Health and Human Services.



**Additional content available on our podcast page**

<http://www.cdc.gov/ncidod/d/d/podcast/index.htm>

**ONLINE ONLY**

New content available for selected articles each month

医薬品  
 医薬部外品  
 化粧品  
 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	厚生労働省処理欄
一般的な名称 人ハプトグロビン	研究報告の公表状況	2009年11月17日	FDA/Vaccines, Blood & Biologics/2009/11/6 公表国 アメリカ	使用上の注意記載状況・その他参考事項等
販売名(企業名) ハプトグロビン静注 2000 単位「ベネシス」 (ベネシス)				
<p>このガイダンスは、輸血によるウエストナイルウイルス(WNV)伝播の可能性を最小化するために、血液採取施設が講ずる措置についての推奨である。示された全血及び血液成分のドネーションのための推奨内容は以下の通りである。</p> <p>A. 検査、ユニットの管理及びドナー管理</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 輸注を意図して採取された全血および血液成分のドナーサンプルについて、WNV のスクリーニングを認可された NAT で 1 年を通じて行うことを推奨する。</li> <li>2. 血液採取・取扱施設がミニプール NAT (MP-NAT) を用いてスクリーニングを行っているのならば、その施設は、陰性であったミニプールを構成している各試験サンプルのものユニット全てを、それらが WNV 以外の点について出荷可とすることが適切であるのならば、出荷することができる。FDA は、血液採取・取扱施設が NAT で陽性を示したミニプールを、それを構成する各検体に戻って個別 NAT (ID-NAT) を用いて検査し、そのミニプールが陽性となる原因となったユニット(単数または複数)を同定することを推奨する。</li> </ol> <p>B. MP-NAT から ID-NAT への切替え</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 当該施設が採取を行う地域内で「WNV の活動性が高い」ということを定義する判断基準を設定し、バリデートすること。</li> <li>2. 当該施設が採取を行う地域で「WNV の活動性が高い」際に MP-NAT から ID-NAT へとスイッチするため、およびその地域での「WNV の活動性が高い」状態が収まったときに MP-NAT へと戻すための閾値を定めること。</li> <li>3. MP-NAT から ID-NAT へのスイッチは可能な限り早期に行うべきだが、定めた閾値に達してから 48 時間以内に行うこと。</li> <li>4. このような決定のプロセスについて SOP (標準作業手順書) を制定し、それに従うこと。</li> </ol> <p>C. 検査実施報告書</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 血液採取・取扱施設が認可を得ている施設であって、かつ、血液製剤の感染症検査を行うことがすでに FDA によって承認された施設では、認可を得ている WNV NAT 検査を製造者の使用説明書に従って当該施設で用いることができ、その場合には 21 CFR 601.12(d) に従って、検査法の変更について、その施設の FDA への年次報告中に記載して FDA に知らせなければならない。</li> <li>2. 血液採取・取扱施設が認可を得ている施設であって WNV の NAT 検査を行うために新たな契約ラボを利用する場合であって、かつ、そのラボがすでに血液製剤の感染症検査を行っている場合には、その血液採取・取扱施設はその変更について FDA に報告しなければならない、またそのことは 21 CFR 601.12(c) (1) および (5) に従って "Supplement-Changes Being Effected" の申請を行うことによって報告しても良い。</li> </ol> <p>D. 輸血を目的とした全血及び血液成分の表示</p> <p>21 CFR 606.122 (h) は、輸注を意図した血液製剤用の使用案内書 ("Circular of Information" としても知られている) には、安全でかつ有効な使用のために必要であれば、実施した検査名と結果を全て含めることを求めている。この 21 CFR 606.122 (h) に準拠するために、WNV の NAT として認可を受けた検査を実施するに際しては、認可を受けた血液採取・取扱施設、認可を受けていない施設のどちらでも、そのような使用案内書を改訂して、WNV についての NAT 検査が陰性であったとの結果を含めるようにしなければならない。</p>				<ol style="list-style-type: none"> <li>2. 重要な基本的注意</li> <li>(1) 本剤の原材料となる献血者の血液については、HBs 抗原、抗 HCV 抗体、抗 HIV-1 抗体、抗 HIV-2 抗体、抗 HTLV-1 抗体陰性で、かつ ALT (GPT) 値でスクリーニングを実施している。更に、プールした試験血漿については、HIV-1、HBV 及び HCV について核酸増幅検査 (NAT) を実施し、適合した血漿を本剤の製造に使用しているが、当該 NAT の検出限界以下のウイルスが混入している可能性が常に存在する。本剤は、以上の検査に適合した血漿を原料として、Cohn の低温エタノール分画で得た画分から人ハプトグロビンを濃縮・精製した製剤であり、ウイルス不活化・除去を目的として、製造工程において 60℃、10 時間の液状加熱処理及びろ過処理 (ナノフィルトレーション) を施しているが、投与に際しては、次の点に十分注意すること。</li> </ol>



報告企業の意見	今後の対応
<p>ウエストナイルウイルスの伝播リスクを低減するための核酸検査 (NAT) の使用に関する業界ガイダンスである。FDA は、2005 年 6 月の業界向けガイダンス改訂版において、「FDA は全ての血漿分画製剤について現在行われているウイルス低減工程を再調査した。現在行われている方法は、WNV と分類上関連しているフラビウイルスを不活化することがバリデートされている。」と評価し、CPMP もまたポジションステートメントにおいて、血漿分画製剤の製造工程で WNV は不活化・除去されると評価している。万一、原料血漿に WNV が混入しても、BVD をモデルウイルスとしたウイルスバリデーション試験成績から、本剤の製造工程において十分に不活化・除去されると考えている。</p>	<p>本報告は本剤の安全性に影響を与えないものと考えるので、特段の措置はとらない。</p>

47

ハプトグロビン

# Guidance for Industry

## Use of Nucleic Acid Tests to Reduce the Risk of Transmission of West Nile Virus from Donors of Whole Blood and Blood Components Intended for Transfusion

Additional copies of this guidance are available from the Office of Communication, Outreach and Development (OCOD) (HFM-40), 1401 Rockville Pike, Suite 200N, Rockville, MD 20852-1448, or by calling 1-800-835-4709 or 301-827-1800, or from the Internet at <http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/default.htm>.

For questions on the content of this guidance, contact OCOB at the phone numbers listed above.

U.S. Department of Health and Human Services  
Food and Drug Administration  
Center for Biologics Evaluation and Research  
November 2009

48

## Table of Contents

I.	INTRODUCTION.....	1
II.	BACKGROUND.....	1
	A. Whole Blood and Blood Components.....	2
III.	RECOMMENDATIONS FOR DONATIONS OF WHOLE BLOOD AND BLOOD COMPONENTS.....	4
	A. Testing, Unit Management, and Donor Management.....	4
	B. Switching from MP-NAT to ID-NAT.....	5
	C. Reporting Test Implementation.....	6
	D. Labeling of Whole Blood and Blood Components Intended for Transfusion.....	6
IV.	IMPLEMENTATION.....	9
V.	REFERENCES.....	9

## Guidance for Industry

### Use of Nucleic Acid Tests to Reduce the Risk of Transmission of West Nile Virus from Donors of Whole Blood and Blood Components Intended for Transfusion

*This guidance represents the Food and Drug Administration's (FDA's) current thinking on this topic. It does not create or confer any rights for or on any person and does not operate to bind FDA or the public. You can use an alternative approach if the approach satisfies the requirements of the applicable statutes and regulations. If you want to discuss an alternative approach, contact the appropriate FDA staff. If you cannot identify the appropriate FDA staff, call the appropriate number listed on the title page of this guidance.*

#### I. INTRODUCTION

We, FDA, are issuing this guidance to provide you<sup>1</sup> with recommendations for testing donations of Whole Blood and blood components for West Nile Virus (WNV) using an FDA-licensed donor screening assay<sup>2</sup>. We believe that the use of a licensed nucleic acid test (NAT) will reduce the risk of transmission of WNV, and therefore recommend that you use a licensed NAT to screen donors of Whole Blood and blood components intended for transfusion for infection with WNV.

The recommendations in section III of this guidance apply to all donations of Whole Blood (as defined in Title 21 Code of Federal Regulations (CFR) 640.1) and blood components for transfusion<sup>3</sup>.

FDA's guidance documents, including this guidance, do not establish legally enforceable responsibilities. Instead, guidances describe FDA's current thinking on a topic and should be viewed only as recommendations, unless specific regulatory or statutory requirements are cited. The use of the word *should* in FDA's guidances means that something is suggested or recommended, but not required.

#### II. BACKGROUND

WNV first appeared in the United States in 1999, and has become endemic with high viral activity during the warm months of the year. WNV is a mosquito-borne agent that is maintained

<sup>1</sup> This guidance is intended for establishments that collect Whole Blood and blood components intended for transfusion.

<sup>2</sup> This guidance finalizes the recommendations for donations of Whole Blood and blood components in the draft guidance titled, *Guidance for Industry: Use of Nucleic Acid Tests to Reduce the Risk of Transmission of West Nile Virus from Donors of Whole Blood and Blood Components Intended for Transfusion and Donors of Human Cells, Tissues, and Cellular and Tissue-Based Products (HCT/TPs)*, dated April 2008 (April 28, 2008, 73 FR 22958).

<sup>3</sup> This guidance does not apply to Source Plasma or plasma derivatives.

## Contains Nonbinding Recommendations

in nature primarily between birds and mosquitoes but can also infect other animals, including humans. The potential for WNV transmission by blood transfusion during the acute phase of infection, when infected individuals are viremic and asymptomatic, was first recognized in 2002 (Ref. 1). At that time, test kit manufacturers and blood organizations, with input from the Public Health Service (National Institutes of Health, FDA, and Centers for Disease Control and Prevention (CDC)), actively pursued development of NAT systems for WNV. Retrospective studies have subsequently confirmed human-to-human transmission of WNV by blood transfusion and by organ transplantation (Refs. 2, 3).

Nationwide clinical studies to evaluate a NAT for the detection of WNV were initiated in 2003, under FDA's Investigational New Drug Application (IND) regulations (21 CFR Part 312). Such large-scale studies were necessary to help ensure blood safety and to determine the efficacy of investigational assays to prevent the transmission of WNV through blood transfusion, because at that time there was no FDA-licensed screening assay available to detect WNV infection.

Since 2005, FDA has approved biologics license applications for two NAT assays for detecting WNV ribonucleic acid (RNA) using plasma specimens from human donors of blood. The assays are intended for use in testing individual donor samples and in testing pools of human plasma comprised of equal aliquots of not more than either 6 or 16 individual donations (minipools) of whole blood and blood components, depending on the manufacturer.

As explained below in section III, if the result of a licensed minipool NAT (MP-NAT) is reactive, and subsequent testing of the individual donation(s) (ID-NAT) comprising the tested minipool is reactive, then FDA would recommend treating the reactive unit(s) as though they are infectious.

Evaluation of additional testing performed on specimens that were reactive on screening by ID-NAT has shown that a repeat ID-NAT on index donation specimens (i.e., the same or an independent specimen from the index donation, which is the donation for which the test result was reactive), using either the same screening assay or an equally sensitive alternate NAT, together with a test result for antibody to WNV, has a positive predictive value of 98% (Ref. 4).

Data show that up to 10% of donors who have a reactive ID-NAT that fails to be reactive on repeat testing by ID-NAT actually are infected, based on the presence of antibodies to WNV either in the index donation (ca. 8%) or on a follow-up test (ca. 2%) (Ref. 4). Therefore, additional testing that would include repeat testing by ID-NAT along with testing for antibody to WNV may be of value in donor counseling.

### A. Whole Blood and Blood Components

In 2002, there were 23 confirmed cases of WNV transmission by blood or blood components (Ref. 3). Only six transmissions of WNV by transfusion were documented in 2003 (Ref. 5) following nationwide implementation of screening for WNV by MP-NAT under an IND in July 2003. Retrospective studies using ID-NAT to test MP-NAT non-reactive specimens collected during that season identified additional reactive donations and indicated that up to 25% of viremic units were not detected by MP-NAT, presumably due to low viral load (Ref. 6). Results

## Contains Nonbinding Recommendations

of these studies show that for detecting WNV, ID-NAT has greater sensitivity than MP-NAT.

As a result, ID-NAT may identify reactive donations not detected by MP-NAT. However, limitations in reagent availability, and personnel and logistical issues related to blood donor screening may not allow full implementation of ID-NAT. During the development and implementation of the ID-NAT test under IND, MP-NAT of plasma samples (pools of 6 or 16 samples), rather than ID-NAT, was the only feasible format for performing the test. In addition, testing using the MP-NAT format was similar to the assay platforms being used for human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) NAT and hepatitis C virus (HCV) NAT at that time. As reagent availability increases, technology advances, and personnel and logistical issues related to blood donor screening diminish, year-round ID-NAT testing of all donations of blood and blood components, using a licensed NAT, may become feasible and practical.

Although year-round ID-NAT testing of all blood and blood components may not be currently feasible, we believe that using ID-NAT instead of MP-NAT on a limited basis during periods of high WNV activity to maximize the benefit to the public health is more practicable. Statistical analyses were performed on the data from the retrospective studies described above to establish criteria for defining high WNV activity in a particular geographic region (Ref. 7). These criteria were used as a "trigger" for ID-NAT implementation and for reversion to MP-NAT testing when the high WNV activity in that region subsided. Since 2004, ID-NAT screening replaced MP-NAT screening in those geographic regions of high WNV activity during epidemic periods (Refs. 7, 8) when a threshold was reached. The threshold was usually based on the number of MP-NAT-reactive screening test results obtained during a one-week interval or on a cumulative rate for ID-NAT reactive screening test results in a particular region (Ref. 4).

After selective implementation of ID-NAT during epidemic seasons, there were three additional transmissions of WNV by transfusion between 2004 and 2006: one in 2004 and two in 2006. The WNV transmission in 2004 resulted from a donation of red blood cells which tested non-reactive in a MP-NAT assay, but which was subsequently found to be reactive in an ID-NAT test. Plasma from the donation retrospectively tested reactive by ID-NAT. However, ID-NAT had not yet been implemented (Ref. 9). The two WNV transmissions in 2006 resulted from a non-reactive MP-NAT donation from which red blood cells and fresh frozen plasma were transfused to two immunosuppressed recipients (Ref. 10). Investigation of the 2006 cases showed that: 1) there were no established methods of communication linking WNV MP-NAT data from multiple collecting and testing facilities serving overlapping or adjacent geographic areas; and 2) if efficient communication mechanisms had been in place, the corresponding collection area would have reached the threshold for switching to ID-NAT screening, and the WNV-contaminated components would likely have been detected and removed from the blood supply (Ref. 4).

At this time, there is insufficient data to support recommendation of uniform threshold criteria for switching from MP-NAT screening to ID-NAT screening. Pending development of suitable uniform threshold criteria, we consider it appropriate for each blood establishment to define its own threshold criteria for switching from MP-NAT to ID-NAT screening and for reverting to MP-NAT screening. Each blood establishment should follow an established standard operating procedure (SOP) for this decision process. Voluntary industry practice of switching from MP-

### Contains Nonbinding Recommendations

NAT to ID-NAT screening during seasonal activity has been useful in increasing the effectiveness of the WNV screening process.

### III. RECOMMENDATIONS FOR DONATIONS OF WHOLE BLOOD AND BLOOD COMPONENTS

Testing donations of Whole Blood and blood components for WNV using NAT involves the use of defined pooling and testing systems. We recognize that licensed testing technology in a semi-automated or fully automated format is not universally available, and that if you are currently performing NAT for WNV under an IND you would need time to fully implement a licensed system with all approved components, including the supporting software cleared as a device. If you are therefore using some, but not all, of the licensed or cleared components, you should continue your existing IND and report the use of the licensed assay or the related cleared components as an amendment to your existing IND. When you implement all licensed or cleared components of the test system, you may withdraw the IND in accordance with the procedures provided in 21 CFR 312.38.

#### A. Testing, Unit Management, and Donor Management

1. We recommend that you screen year-round for WNV using a licensed NAT on donor samples of Whole Blood and blood components intended for transfusion. In general, you may use either MP-NAT or ID-NAT for screening (see Figure 1 and Table 1), except that we recommend that you use ID-NAT screening during high WNV activity in your region (using a previously defined geographic area). See section B.
2. If you perform screening using MP-NAT, you may release all units whose test samples comprise a non-reactive minipool, if those units are otherwise suitable for release.

We recommend that you resolve a NAT-reactive minipool using ID-NAT to test each specimen in the minipool in order to identify the unit(s) that led to the reactivity of the minipool. Based on the ID-NAT results, we recommend the following:

- a. You may release all ID-NAT non-reactive units if they are otherwise suitable for release.
- b. If one or more individual donation(s) is (are) reactive, we recommend that you discard the unit(s), defer the donor(s) for a period of 120 days and retrieve and quarantine in-date products from prior collections dating back 120 days prior to the donation that is ID-NAT-reactive. We recommend that you notify the donor of his or her deferral and counsel the donor. Further testing on the index donation using the same ID-NAT or an alternate NAT with sensitivity equal to or greater than that of the screening assay, in addition to testing the

### Contains Nonbinding Recommendations

specimen using a cleared test for antibodies to WNV may be of value in donor counseling.

Note: In the event that the NAT screening assay does not discriminate between WNV and other Flaviviruses that belong to the Japanese Encephalitis (JE) serogroup (namely, Saint Louis Encephalitis virus, Japanese Encephalitis virus, Murray Valley Encephalitis virus and Kunjin virus), the donor should be counseled that he or she tested positive for a JE serogroup virus, most likely WNV. Alternatively, the use of a NAT assay that discriminates WNV from other members of the JE serogroup may be of value in donor counseling.

Note: Antibodies to viruses of the JE serogroup may cross-react on the test for antibodies to WNV (Refs. 11, 12). Therefore, reactivity in a WNV antibody test may not be conclusive for WNV infection.

3. If you perform screening using ID-NAT, we recommend that you follow the steps in 2.a. and 2.b. for testing, unit management, and donor management.

#### B. Switching from MP-NAT to ID-NAT

We recommend that you:

1. Establish and validate criteria that define high WNV activity in your geographic area of collection.
2. Define a threshold for switching from MP-NAT to ID-NAT screening during high WNV activity in your geographic area of collection, and for reverting to MP-NAT screening when the high WNV activity in your geographic area has subsided.
3. Switch from MP-NAT to ID-NAT screening as soon as feasible, but within 48 hours of reaching that threshold.
4. Establish and follow an SOP for this decision process.

NOTE: To define the geographic area for which the threshold criteria would apply, you may consider using the donor's residential zip code or county, or other well-specified region of comparable size that includes the donor's residence. Although exposure to WNV may occur in any location, it is reasonable to assume that exposure most likely occurred while the donor was near his or her residence, because mosquito activity is highest at dawn and dusk, times when many donors are at home. Mechanisms for switching to ID-NAT screening that utilize defined geographic areas based on residential zip codes, counties, or other comparable well-specified regions provide a standardized method for collecting data on the number of NAT-reactive donations and the number of donations tested.

Consideration of other epidemiological data may be useful in defining a threshold for switching from MP-NAT to ID-NAT screening, if such data are available.

### Contains Nonbinding Recommendations

Examples include the number of clinical cases, the number of positive birds or mosquito pools reported in a particular geographic area, and prior ID-NAT implementation history.

You should switch from MP-NAT to ID-NAT screening when the WNV case threshold has been met or exceeded in your defined geographic area. Blood establishments that share geographic collection areas should consider a communication plan so that data from overlapping and adjacent collection areas may be shared and used to assess WNV activity in a defined geographic area. You may use this data to determine whether your defined threshold for switching to ID-NAT screening has been met.

### C. Reporting Test Implementation

1. If you are a licensed blood establishment and are already FDA-approved to perform infectious disease testing of blood products, you may use at your facility a licensed WNV NAT according to the manufacturer's product insert, and you must notify us in your annual report of the testing change in accordance with 21 CFR 601.12(d). Also, if you have already filed a supplement to your Biologics License Application to use a contract laboratory to perform infectious disease testing of blood products, and the contract laboratory will now perform a NAT for WNV, you must report this change in your annual report, in accordance with 21 CFR 601.12(d).
2. If you are a licensed blood establishment and you use a new contract laboratory to perform a NAT for WNV and the laboratory already performs infectious disease testing for blood products, then you must report this change to FDA, and may do so through submission of a "Supplement – Changes Being Effectuated" in accordance with 21 CFR 601.12(c)(1) and (5), also known as changes being effectuated immediately (CBE). If your contract laboratory previously has not performed infectious disease testing for blood products, then you must submit this change in a prior approval supplement (PAS) in accordance with 21 CFR 601.12(b).

### D. Labeling of Whole Blood and Blood Components Intended for Transfusion

Title 21 CFR 606.122(h) requires that an instruction circular, also known as the "Circular of Information," for blood products intended for transfusion include the names and results of all tests performed when necessary for safe and effective use. To comply with 21 CFR 606.122(h), upon implementation of a licensed NAT for WNV, both licensed and unlicensed blood establishments must revise such instruction circular to include the non-reactive results of a NAT for WNV. If you are a licensed blood establishment, you may submit this labeling as a CBE (21 CFR 601.12(c)(1) and (5)), provided the revision is identical to the following statement:

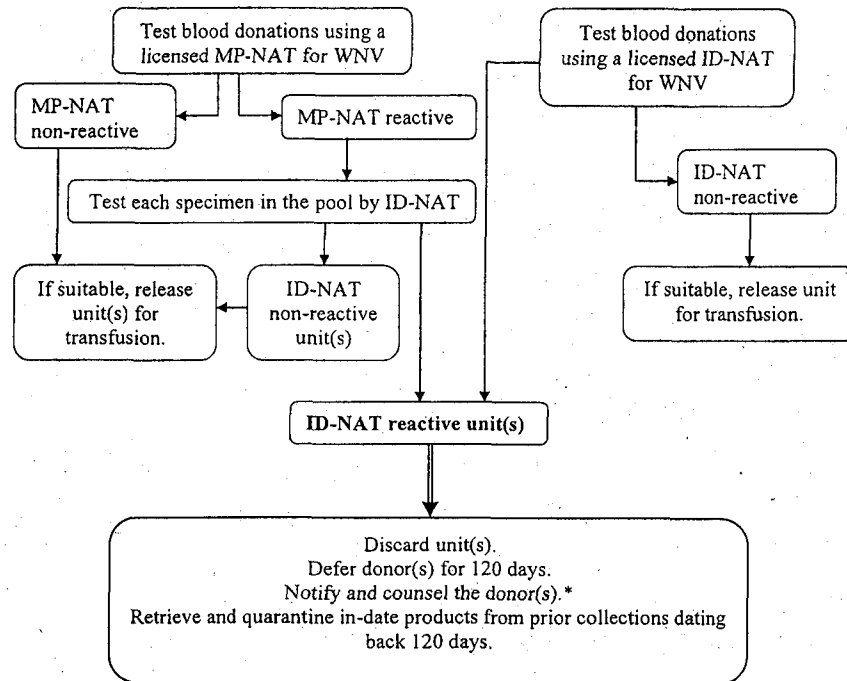
"A Licensed Nucleic Acid Test (NAT) for West Nile Virus (WNV) RNA has

### Contains Nonbinding Recommendations

been performed and found to be non-reactive."

If you are a licensed blood establishment and you wish to use a different statement, then you must submit the labeling change as a PAS (21 CFR 601.12(b)). If you are an unlicensed blood establishment, you must revise the instruction circular under 21 CFR 606.122(h), but you are not required to submit the revision as a supplement.

**Figure 1. Recommendations on Testing, Unit Management, and Donor Management for Whole Blood and Blood Components**



\* Additional testing on the index donation using the same ID-NAT assay or an alternate NAT of comparable sensitivity in addition to a cleared test for antibodies to WNV may be of value in donor counseling.

Note: In the event that the NAT screening assay does not discriminate between WNV and other Flaviviruses that belong to the Japanese Encephalitis (JE) serogroup (namely, Saint Louis Encephalitis virus, Japanese Encephalitis virus, Murray Valley Encephalitis virus and Kunjin virus), the donor should be counseled that he or she tested positive for a JE serogroup virus, most likely WNV. Alternatively, the use of a NAT assay that discriminates WNV from other members of the JE serogroup may be of value in donor counseling.

Note: Antibodies to viruses of the JE serogroup may cross-react on the test for antibodies to WNV (Refs. 11, 12). Therefore, reactivity in a WNV antibody test may not be conclusive for WNV infection.

**Table 1. Recommendations on Testing, Unit Management, and Donor Management for Whole Blood and Blood Components**

MP- NAT	ID-NAT	Actions
Reactive	Reactive unit(s)	Discard the unit(s).
		Defer the donor(s) for 120 days.
		Notify and counsel the donor(s).*
	Retrieve and quarantine in-date products from prior collections dating back 120 days.	
	Non-Reactive unit(s)	If suitable, release units for transfusion.
Non-Reactive	Not needed	If suitable, release units for transfusion.

\* Additional testing on the index donation using the same ID-NAT assay or an alternate NAT of comparable sensitivity in addition to a cleared test for antibodies to WNV may be of value in donor counseling.

Note: In the event that the NAT screening assay does not discriminate between WNV and other Flaviviruses that belong to the Japanese Encephalitis (JE) serogroup (namely, Saint Louis Encephalitis virus, Japanese Encephalitis virus, Murray Valley Encephalitis virus and Kunjin virus), the donor should be counseled that he or she tested positive for a JE serogroup virus, most likely WNV. Alternatively, the use of a NAT assay that discriminates WNV from other members of the JE serogroup may be of value in donor counseling.

Note: Antibodies to viruses of the JE serogroup may cross-react on the test for antibodies to WNV (Refs. 11, 12). Therefore, reactivity in a WNV antibody test may not be conclusive for WNV infection.

#### IV. IMPLEMENTATION

We recommend that you implement the recommendations in this guidance as soon as feasible, but not later than six months after the guidance issue date.

#### V. REFERENCES

1. Biggerstaff BJ, Petersen LR, Estimated Risk of West Nile Virus Transmission Through Blood Transfusion During an Epidemic in Queens, New York City. *Transfusion.* 42:1019-26 (2002).
2. Pealer LN, et al., Transmission of West Nile Virus Through Blood Transfusion in the United States in 2002. *N Engl J Med.* 349:1236-45 (2003).

3. Iwamoto M, et al., Transmission of West Nile Virus From an Organ Donor to Four Transplant Recipients. N Engl J Med. 348, 2196-2203 (2003).
4. Blood Products Advisory Committee, 89th Meeting, April 27, 2007. <http://www.fda.gov/hrms/dockets/ac/che07.htm#BloodProducts>.
5. Macedo de Oliveira A, et al., West Nile Virus Blood Transfusion-Related Infection Despite Nucleic Acid Testing. Transfusion. 44:1695-99 (2004).
6. Stramer SL, et al., West Nile Virus Among Blood Donors in the United States, 2003 and 2004. N Engl J Med. 353:451-59 (2005).
7. Custer B, et al., Triggers for Switching from Minipool Testing by Nucleic Acid Technology to Individual-Donation Nucleic Acid Testing for West Nile Virus: Analysis of 2003 Data to Inform 2004 Decision Making. Transfusion. 44:1547-54 (2004).
8. Busch MP, et al., Screening the Blood Supply for West Nile Virus RNA by Nucleic Acid Amplification Testing. N Engl J Med. 353:460-67 (2005).
9. MMWR 2004 Centers for Disease Control and Prevention. Transfusion-Associated Transmission of West Nile Virus --- Arizona, 2004. MMWR. 53(36):842-44 (2004).
10. MMWR 2007 Centers for Disease Control and Prevention. West Nile Virus Transmission - South Dakota, 2006. MMWR. 56(04):76-79 (2007).
11. Holmes DA, et al., Comparative Analysis of Immunoglobulin M (IgM) Capture Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Using Virus-Like Particles or Virus-Infected Mouse Brain Antigens to Detect IgM Antibody in Sera from Patients with Evident Flaviviral Infections. J Clin Microbiol. 43(7):3227-36 (2005).
12. Wong SJ, et al., Immunossay Targeting Nonstructural Protein 5 to Differentiate West Nile Virus Infection from Dengue and St. Louis Encephalitis Virus Infections and from Flavivirus Vaccination. J Clin Microbiol. 41(9):4217-23 (2003).

番号: 2

別紙様式第2-1

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	機構処理欄
		平成 22 年 1 月 5 日	該当なし	
一般的名称	研究報告の公表状況	Google News Dec 18, 2009 (追加情報: The New York Times December 19, 2009)	公表国 米国	
販売名(企業名)				
研究報告の概要				使用上の注意記載状況・その他参考事項等 特になし
	報告企業の意見		今後の対応	
	初めての人から人への感染報告であり、新たな感染経路かつ重大な感染症に関するものであるため、感染症定期報告の対象と判断する。		本研究報告は、ヒト血液を原料とする血漿分画製剤とは直接関連しないことから、現時点で当該生物由来製品に関し、措置等を行う必要はないと判断する。	

MedDRA/J Version(12.1)

8



This copy is for your personal, noncommercial use only. You can order presentation-ready copies for distribution to your colleagues, clients or customers here or use the "Reprints" tool that appears next to any article. Visit [www.nytimes.com](http://www.nytimes.com) for samples and additional information. Order a reprint of this article now.



December 19, 2009

## 2 Kidney Recipients Contract Brain Disease From Donor

By DENISE GRADY

Two transplant patients are critically ill with a rare brain infection that was transmitted to them by kidneys taken from a donor at the [University of Mississippi Medical Center](#) in Jackson, health officials reported on Friday.

The same infection probably killed the organ donor, but it was not diagnosed; his doctors thought he had an autoimmune disease. Two other patients also received heart and liver transplants from the donor, but neither has become ill. The transplants took place in November, in three states. A spokeswoman for the university declined to say where the recipients were, citing patient confidentiality.

Three weeks after their transplant surgeries, the kidney recipients became ill abruptly, within hours of each other, with seizures, a change in mental status and fever, said Dr. Eileen Farnon, an epidemiologist at the [Centers for Disease Control and Prevention](#), which is investigating the cases. A doctor noted that both were transplant recipients, and immediately suspected that they might have contracted an illness from the donor.

Subsequent tests of tissue left from the deceased donor found the infection, which was also diagnosed in the patients. The patients are being treated with a mixture of antimicrobial drugs.

The infection is caused by an amoeba, *Balamuthia mandrillaris*, which lives in soil and water. Only about 70 cases have ever been identified in the United States. Nearly all have been fatal. The current cases are the first to have been found in transplant recipients. Although infections from transplants are uncommon, there have been cases in which recipients contracted West Nile virus, rabies and other infections.

Copyright 2009 The New York Times Company  
[Privacy Policy](#) || [Terms of Service](#) || [Search](#) || [Corrections](#) || [RSS](#) || [First Look](#) || [Help](#) || [Contact Us](#)

## CDC: Rare infection passed on by Miss. organ donor

By HOLBROOK MOHR (AP) - Dec 18, 2009

JACKSON, Miss. — An extremely rare infection has been passed from an organ donor to at least one recipient in what is thought to be the first human-to-human transfer of the amoeba, medical officials said Friday.

Four people in three states received organs from a patient who died at the University of Mississippi Medical Center in November after suffering from neurological problems, said Dave Daigle, a spokesman for the Centers for Disease Controls and Prevention.

Organs are routinely tested for HIV, hepatitis and other more common infections, but occasionally rare ones slip through.

"We test for the known harmful diseases, but there's not a test for every single pathogen out there," said Dr. Kenneth Kokko, medical director of kidney transplants at UMMC.

Two of the recipients are critically ill, but the others haven't shown symptoms, Daigle said. The CDC confirmed the presence of the organism, known as *Balamuthia mandrillaris*, in one of the recipients.

Dr. Shirley Schlessinger, a UMMC doctor and medical director of the Mississippi Organ Recovery Agency, would not say which states had patients receiving the organs.

The public should not be concerned, both Schlessinger and Daigle said.

*Balamuthia mandrillaris* is a microscopic parasite found in soil that causes encephalitis in humans, horses, dogs, sheep and nonhuman primates. Scientists think people get infected by breathing it in, but it can also pass into the blood through a cut or break in the skin. It can be especially dangerous to people undergoing organ transplants, whose immune systems are purposely weakened so their bodies don't reject their new organs.

Human infections are very rare: Only about 150 cases have been reported worldwide since the disease was first identified in 1990. But it can be hard to diagnose because few laboratories test for it and many doctors don't know about it. Some cases are not identified until autopsy, according to the CDC.

"The thing we don't want to happen is for people to take this rare and extraordinary anomaly and think it speaks to a lack of safety," she said. "It's very rare so the likelihood that this will happen again (is small), I mean, it's rarer than rabies."

There are risks to transplants and doctors can't test for everything, but the potential benefits far outweigh the risks, she said.

AP Medical Writer Mike Stobbe in Atlanta contributed to this report.

### On the Net:

- CDC details on *Balamuthia mandrillaris*: <http://bit.ly/7swHMV>.
- University of Mississippi Medical Center: <http://www.umc.edu/>

Copyright © 2010 The Associated Press. All rights reserved.

### Related articles

CDC: Rare infection passed on by Miss. organ donor  
 The Associated Press - Dec 18, 2009

Dr. Shirley Schlessinger and Dr. Kenneth Kokko: Rare Infection in Transplant ...  
 Vitals Spotlight - Dec 19, 2009

CDC: Rare infection passed on by Miss. organ donor  
 The Associated Press - Dec 18, 2009

## 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
一般的名称	報告書の公表状況	2009. 10. 14	該当なし	
販売名(企業名)	研究報告の公表状況	2009. 10. 14	公表国 日本	
人赤血球濃厚液	研究報告の公表状況	2009. 10. 14	公表国 日本	
赤血球濃厚液-LR(日本赤十字社) 照射赤血球濃厚液-LR(日本赤十字社)	研究報告の公表状況	2009. 10. 14	公表国 日本	
研究報告の概要	<p>○遷延する関節痛を主訴に来院したチクングニヤ熱の3例 チクングニヤ熱(Chikungunya fever; CHIKF)は発熱、関節炎、発疹を主症状とする熱性疾患であり、臨床症状や検査所見はデング熱に類似するが、遷延する関節痛が特徴的である。本年になり東南アジア地域を中心に再びCHIKF流行が拡大しており、2009年5月から6月にかけての2ヶ月間で、東南アジアから帰国後に遷延する関節痛を主訴に来院した3例を血清学的にCHIKFと診断したのでその概要を報告する。(症例1)52歳日本人男性。両手足首、両膝)が出現。翌日には解熱したものの関節痛は持続したため、帰国後5月上旬に近医整形外科受診。関節リウマチ、痛風検査を実施されるも陰性であったため、精査目的で当センターを受診した。(症例2)30歳日本人男性。頭痛、発疹が出現。4日後に解熱したものの関節痛は持続したため6月22日に当センターを受診した。(症例3)39歳日本人女性。発疹、歯肉炎が出現。現地の病院で膠原病スクリーニング等の精査を受け、異常所見は認められなかったものの関節痛が持続するため、6月30日に当センターを受診した。流行地から帰国した後、遷延する関節痛を訴える患者を診療する場合には、リウマチ性疾患との鑑別の上でもCHIKFの可能性を考慮に入れた正確な血清診断を行うべきである。</p>			
報告企業の意見	<p>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。</p>			
報告企業の意見	<p>2009年5月から6月にかけて、東南アジアから日本へ帰国後に、遷延する関節痛を主訴に来院した3例を血清学的にチクングニヤ熱と診断したとの報告である。</p>			
今後の対応	<p>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。</p>			

MedDRA/J Ver.12.0J

041

在日ラテンアメリカ人の慢性シャーガス病キャリアーと2次感染予防

慶應義塾大学医学部熱帯医学寄生虫学

○三浦 左千夫, 竹内 勲

我が国の在日ラテンアメリカ人は既に40万人に達する勢いで増加している。そのうちブラジルからの滞在者が80%を占めており、その8万人が既に定住永住権を取得している。こうした中で、南米特有の風土病シャーガス病患者も散見されるようになった。近年各地医療機関から依頼のあった心疾患患者41名についてシャーガス病原体 *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) 血清抗体検査を行った。その結果15名(36.5%)が明らかに陽性と判定され、シャーガス病が示唆された。更に、抗体陽性者について血液を材料にしたPCRを行った結果4名に *T. cruzi* -DNA産物を検出した。病原体の血液内生残が強く示唆されたので、更に血液培養を試みた結果2名(抗体陽性者の13.3%)から *T. cruzi* 虫体を分離することが出来た。即ち慢性的病原体キャリアーが日本に現存することが明らかとなった。ECGでは不整脈、心エコーで拡張型心筋症を示した。ブラジル、ボリビアの生活歴がある者に関しては、我が国では臨床経験の少ないシャーガス病感染を検討すべきである。

一方、消化器系の症状を訴える患者の検査依頼は皆無であったが、心室拡張症で通院している同一患者は消化器症状(飲み込み困難、排便困難)をも訴えているものの、検査を受けていない。

本疾患の特徴は感染者の70%は病型が定まらない慢性感染で、一見健康者とみえることである。本人、家族もその感染を認知するものは少ない。

媒介昆虫の存在しない日本国内で感染が起こるとすれば、それは輸血感染、臓器移植による2次感染であると思われる。肝要な点は、事前の抗体チェックでこのような2次感染が防げることである。ラテンアメリカ人の多くを抱える地方自治体は健康保健支援環境を整備し、シャーガス病の2次感染を阻止すべく啓蒙監視活動を強化すべきであり、全国的に行われている善悪の献血現場で抗体スクリーニングを実施すべく、体制の整備を行う必要がある。

042

遷延する関節痛を主訴に来院したチクングニヤ熱の3例

<sup>1</sup>国立国際医療センター山手病院 国際疾病センター、<sup>2</sup>長崎大学熱帯医学研究所 臨床医学分野、<sup>3</sup>国立感染症研究所 ウイルス第一部

○水野 孝幸<sup>1</sup>、氏家 無限<sup>1,2</sup>、竹下 望<sup>1</sup>、加藤 康幸<sup>1</sup>、金川 修造<sup>1</sup>、工藤 宏一郎<sup>1</sup>、林 昌宏<sup>2</sup>、高崎 智彦<sup>3</sup>

チクングニヤ熱(Chikungunya fever; CHIKF)は発熱、関節炎、発疹を主症状とする熱性疾患であり、臨床症状や検査所見はデング熱に類似するが、遷延する関節痛が特徴的である。本年になり東南アジア地域を中心に再びCHIKF流行が拡大しており、当センターにおいても2009年5月から6月にかけての2ヶ月間で、東南アジアから帰国後に遷延する関節痛を主訴に来院した3例を血清学的にCHIKFと診断したのでその概要を報告する。(症例1)52歳日本人男性。2009年3月26日から4月5日までインドネシア・スマトラ島へ蜂の採集目的で滞在。3月31日に39.5度の発熱、関節痛(両手足首、両膝)が出現。翌日には解熱したものの関節痛は持続したため、帰国後5月上旬に近医整形外科受診。関節リウマチ、痛風検査を実施されるも陰性であったため、精査目的で当センターを受診した。(症例2)30歳日本人男性。2009年4月16日より6月14日までインドネシア・ジャワ島へ舞台公演目的で滞在。5月13日に発熱、関節痛(右足首、左膝、右腕)、頭痛、発疹が出現。4日後に解熱したものの関節痛は持続したため6月22日に当センターを受診した。(症例3)39歳日本人女性。2009年4月4日より6月28日までマレーシア・クアラルンプール郊外に帯同家族として滞在。5月12日に39.5度の発熱、関節痛(両手足首)、発疹、歯肉炎が出現。現地の病院で膠原病スクリーニング等の精査を受け、異常所見は認められなかったものの関節痛が持続するため、6月30日に当センターを受診した。いずれの症例も来院時の検査でチクングニヤウイルスIgM抗体及び中和抗体陽性であり、血清学的にCHIKFと確定診断した。流行地から帰国した後、遷延する関節痛を訴える患者を診療する場合には、リウマチ性疾患との鑑別の上でもCHIKFの可能性を考慮に入れた正確な血清診断を行うべきである。

## 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. 9. 16	該当なし	
一般的名称	解凍人赤血球濃厚液		公表国	
販売名(企業名)	解凍赤血球濃厚液「日赤」(日本赤十字社) 照射解凍赤血球濃厚液「日赤」(日本赤十字社) 解凍赤血球-LR「日赤」(日本赤十字社) 照射解凍赤血球-LR「日赤」(日本赤十字社)	研究報告の公表状況	ベトナム	
		ProMED 20090831.3065, 2009 Aug 31. 情報源:Thanhnhien News.com, 2009 Aug 29.		
研究報告の概要	○ Dengue/ Dengue 出血熱 最新情報 [1]ベトナム ベトナムの首都ハノイの保健当局は、年初～8月下旬の Dengue 熱患者数が2500名近くに達したと報告した。これは、2008年の同時期の10倍以上となり、ここ数年で最悪の状態である。国立感染症・熱帯医学研究所の医師によると、患者の大半は市内の Hoang Mai, Thanh Xuan, Dong Da などの地区で発生しており、2008年に隣接の地区を合併して人口が増えたために患者が増加したという説を否定した。 南部のホーチミン市では、2009年の症例数は大きく増えてはいないものの、重症化・死亡する患者が多くなっている。市の保健当局によると、年初～現在までの症例数は7100例で2008年の同時期と比べて5%多く、死亡患者は現時点で7名となっている。同市の第一小児病院では治療を受けている80名以上の子供のうち、1/4は循環器障害、神経学的問題、出血などを発症するステージ3か4である。毎日20～25名の子供が入院しており、70%はホーチミン市の患者である。「症状が出て1～2日の間は、手足口病やH1N1インフルエンザと区別がつきにくい。H1N1では様々な症状が現れるため、Dengueへの警戒がおそろかになっているが、子供は死に至る危険性がある」と第一小児病院の医師は警告した。			使用上の注意記載状況・その他参考事項等
			解凍赤血球濃厚液「日赤」 照射解凍赤血球濃厚液「日赤」 解凍赤血球-LR「日赤」 照射解凍赤血球-LR「日赤」  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			
ベトナムの首都ハノイで、Dengue 熱患者数が2008年の同時期の10倍以上に達し、南部のホーチミン市では重症化・死亡する患者が多くなっているとの報告である。	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。			

10

MedDRA/J Ver.12.0J



Navigation

Home

Subscribe/Unsubscribe

Search Archives

Announcements

Recalls/Alerts

Calendar of Events

Maps of Outbreaks

Submit Info

FAQs

Who's Who

Awards

Citing ProMED-mail

Links

Donations

About ProMED-mail

about ISID | membership | programs | publications | resources | 14th ICID | site map

JRC2009T-047

1/8-2

INTERNATIONAL SOCIETY  
FOR INFECTIOUS DISEASES

Archive Number 20090831.3065

Published Date 31-AUG-2009

Subject PRO/EDR&gt; Dengue/DHF update 2009 (35)

DENGUE/DHF UPDATE 2009 (35)

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*

Earlier this week, the Hanoi Health Department reported that nearly 2500 cases of the mosquito-borne illness had been recorded citywide since the beginning of the year [2009], 10 times more than over the same period last year [2008]. The department said the figures were the worst in years. "The number of dengue cases has gone up critically," said National Institute of Infectious and Tropical Diseases deputy director Nguyen Hong Ha, adding that the institute had admitted up to 45 dengue patients a day recently. "Around 100 patients are receiving treatment at the institute right now. We're on overload," he said. "Patients have to share beds, and we've even had to set up beds in the corridors. But that's still not enough; ... we're buying more beds."

According to the doctor, most of the patients had come from inner-city districts like Hoang Mai, Thanh Xuan, and Dong Da. He said that fact refuted the popular theory that the number of Hanoi dengue patients had gone up because the capital had absorbed parts of Hoa Binh and Vinh Phuc in 2008.

Although the number of dengue cases recorded in Ho Chi Minh City hasn't increased sharply this year [2009], more patients have reached critical condition, and there have been more deaths related to dengue, said Dr. Phan Van Nghiem from the city's health department. Over 7100 cases have been recorded citywide since the beginning of the year [2009], an increase of 5 percent compared with the same period last year [2008]. The city has already seen 7 deaths due to dengue, according to the department.

Doctor Le Bach Lien, head of the Dengue Fever Department at Children Hospital No. 1, said her facilities were treating around 80 kids for dengue, 1/4th of whom were in stages 3 and 4 with symptoms like circulatory failure, neurological problems and hemorrhaging. "Around 20-25 children are admitted to the hospital with dengue fever every day," said Dr. Lien. "HMC kids account for 70 percent of our child patients."

Between 50 and 60 kids, mainly 3-10 years old, are receiving treatment

for dengue at HCMC Children Hospital No. 2, said Dr. Tran Thi Thuy, deputy head of the hospital's Infection Department. "Around 10 percent of them are in phase 4, the most critical phase, and experiencing physical shock," Dr. Thuy said.

Thu Duc General Hospital has reported that some 20-30 dengue patients, mainly adults, were currently undergoing treatment there.

"During the 1st 1-2 days of infection, dengue in kids is difficult to distinguish from hand-foot-mouth disease or H1N1 flu," Lien said. "As H1N1 flu manifests itself in complicated ways, many people have let their guard down against dengue fever. But dengue can be fatal for kids," she warned.

[Byline: Thanh Tung-Lien Chau]

--

Communicated by:  
PromED-mail Rapporteur Mary Marshall

A map of Viet Nam showing the provinces can be accessed at [http://www.lib.utexas.edu/maps/middle\\_east\\_and\\_asia/vietnam\\_admin01.jpg](http://www.lib.utexas.edu/maps/middle_east_and_asia/vietnam_admin01.jpg). An interactive HealthMap/PromED-mail of Viet Nam can be accessed at <http://healthmap.org/r/008c>. - Mod.TY]

\*\*\*\*\*

[2] Sri Lanka  
Date: Sat 29 Aug 2009  
Source: Xinhua News Agency [edited]  
[http://news.xinhuanet.com/english/2009-08/29/content\\_11961338.htm](http://news.xinhuanet.com/english/2009-08/29/content_11961338.htm)

The number of dengue cases has risen to 24 629 while 245 people have died of the disease in Sri Lanka so far this year [2009], the Epidemiological Unit of the Health Ministry said on Friday [28 Aug 2009].

The Epidemiological Unit said in its latest statistics that of the 24 629 cases, the highest number of patients were reported from June [2009] totaling 7048. It is followed by July [2009] with 6858 cases being reported.

This represents a sharp increase, as only 4156 dengue cases and 85 deaths were reported for the whole year of 2008.

Health officials said the majority of these cases have been reported from the areas of Kandy, Kegalle, Colombo, Gampaha and Kurumegala.

The rapid rise in the level of the epidemic has forced the health authorities to carry out extensive public awareness campaigns to eradicate the mosquito-based epidemic.

Households have been warned to keep the environment free of mosquitoes. Those who allow the mosquitoes to breed by allowing stagnating water face prosecution, with a special hotline being made available for public information.

There has been a decline in the number of dengue fever cases in August [2009], with 2387 cases being recorded as of [28 Aug 2009], officials said.

--

Communicated by:  
PRO/MBDS <[promed-mbds@promedmail.org](mailto:promed-mbds@promedmail.org)>

[During 2004 to 2009, the dengue outbreak in 2009 is the largest in Sri Lanka. Based on the above newswire, there have been 24 629 cases and 245 deaths so far (January-August 2009). The case fatality rate (CFR) is 0.99 percent. The number of reported dengue cases has dramatically increased nearly 6-fold as compared to 2008 (4156 cases).

At present, the trend of the dengue outbreak in Sri Lanka is decreasing, as there were 7048 cases, 6858 cases and 2378 cases reported in June, July and August 2009, respectively. However, more dengue outbreaks are also possible in November to February, when the

northeast monsoon begins.

Dengue is transmitted by the main vector, the *Aedes aegypti* mosquito. There are 4 distinct (but closely related) viruses that cause dengue. According to WHO's Regional Office for Southeast Asia (WHO/SEARO) report (available at [http://www.searo.who.int/en/Section10/Section332\\_1100.htm](http://www.searo.who.int/en/Section10/Section332_1100.htm)), Sri Lanka, Indonesia, Thailand and Timor-Leste are classified in category A upon the transmission potential of dengue. The common characteristics among those countries are dengue fever (DF)/dengue haemorrhagic fever (DHF) as a major public health problem, which is the leading cause of hospitalization and death among children, and there are cyclical epidemics in urban centers and spreading to rural areas with multiple virus serotypes circulating.

In 2004, the total of dengue cases reported was 15 408 with 88 deaths (CFR 0.57) in Sri Lanka. During the past 20 years, the outbreak in 2004 was most serious, although the CFR was lower than in the past. Cases were reported every month, the highest being in June-July 2004. Cases were reported from 25 districts. Of these, 72 percent of cases and 78 deaths were from 5 cities, namely Colombo, Kandy, Gampaha, Kalutara and Kurunegala. The CFRs range from 0.4 percent to 1.1 percent.

In 2006, the reported dengue cases and deaths due to dengue had increased 2-fold as compared to 2005. The case fatality was maintained below one percent. In 2007 till May, 1846 dengue cases and 9 deaths have been reported from Sri Lanka (see [http://www.searo.who.int/en/Section10/Section332/Section2277\\_11963.htm](http://www.searo.who.int/en/Section10/Section332/Section2277_11963.htm)).

A map of Sri Lanka can be accessed at [http://www.lib.utexas.edu/maps/middle\\_east\\_and\\_asia/sri\\_lanka\\_pol01.jpg](http://www.lib.utexas.edu/maps/middle_east_and_asia/sri_lanka_pol01.jpg). A HealthMap/PromED-mail interactive map of Sri Lanka can be accessed at <http://healthmap.org/r/009M>. - Mod.SCM].

\*\*\*\*\*

[3] Myanmar (Rakhine)  
Date: Mon 24 Aug 2009  
Source: Mizzima News [edited]  
<http://www.mizzima.com/news/inside-burma/2666-dengue-kills-three-afflicts-over>

According to information from the Ministry of Health, at least 3 people have died and 329 have been infected with dengue fever this year [2009] in Sittwe and Kyaukphyu of Arakan (Rakhine) State in western Burma (Myanmar).

According to the ministry of health, 2 people in Sittwe, capital of Arakan (Rakhine) state, have died and another in Kyaukphyu town.

"Though dengue is not very dangerous, 2 people died in our town, scaring people. There are many dengue afflicted child patients in hospital, but I cannot tell the exact number. Besides, there are many more unreported cases in the villages. The villagers cannot afford treatment at the hospital. Only the affluent in the town can get admitted to the hospital. Dengue has infected not only children but adults as well. There are many people from different age groups being treated at our hospital. Most patients are children, and the fever lasts less than a week, after which the patient is out of danger," a doctor in Sittwe Hospital said.

But some patients need to be treated for over a week. "My daughter had dengue since the beginning of this month [August 2009] and was hospitalized as soon as she was infected. Now she has been discharged. Though her condition has improved, she has not yet fully recovered. She has been absent from school for over 2 weeks," [her mother] in Sittwe told Mizzima.

Teachers are worried about their students, as many are absent from schools. "There are many children who cannot come to school because of the flu. Their friends say they either have flu or dengue fever. Some could not come to school for a whole month [August 2009]. We are worried about their education given the long absence from classes," a class teacher in the State High School No. 2 in Sittwe told Mizzima.

Though the symptoms of the disease are coughing, sneezing, fever, and

body ache, in this type of influenza, similar symptoms are not found, and there are only sudden high fever plus headaches.

Rash, bleeding from the nose and gums, bloodstains in the urine and stool were found in these patients. Patients are known to become unconscious, have convulsions, perspire with high fever, vomit continuously, and suffer from shock.

Dengue fever cases were also reported in Pyi, Pa-an in Karen State and Htantalan town in Chin State.

The Health Ministry release said that about 30 people die of dengue fever in Rangoon [Yangon] annually.

Communicated by:  
PRO/MBDS <[promed-nbds@promedmail.org](mailto:promed-nbds@promedmail.org)>

[The newswire above is the 4th report of dengue cases and deaths in Myanmar since mid June 2009. However, it is the 1st report from Rakhine state (formerly Arakan), one of 7 states of Myanmar situated along the western coast. According to the newswire, there have been 329 dengue fever cases with 3 fatalities (2 cases from Sittwe and another one from Kyaukphyu town) during 2009.

The previously reported dengue outbreak in Myanmar occurred in Myitkyina, capital of Kachin State (see prior PRO/MBDS posting Dengue Myanmar (03): RFI 20090728.2650). There are no current reports of morbidity and mortality statistics in the country with respect to dengue fever in 2009. However, as of 24 Jul 2009, there were 838 cases with 6 deaths of dengue during 2009 in Yangon, Myanmar (see prior PRO/MBDS posting Dengue - Myanmar (02): Yangon 20090726.2635).

In Myanmar, dengue fever (DF)/dengue haemorrhagic fever (DHF) is one of the leading causes of morbidity and mortality among children under the age of 10 years, with approximately 85 percent of cases occurring in this age group. An annual average of 7000-10 000 cases of DF/DHF are reported nationwide. However, in recent epidemic years (2001, 2005, and 2007), the number had risen to over 15 000 cases. In 2007, 62 percent of all reported cases were from Yangon Division (31 percent), Ayeyarwaddy Division (16 percent) and Mon State (15 percent) (1).

The 1st major epidemic of the disease syndrome in Myanmar occurred in the capital, Yangon in 1970. Since then, epidemics have continued to occur in a cyclic pattern, and the disease has spread from Yangon to most parts of the country. Between 1970 and 1995, there were 83 381 cases of DHF with 3243 deaths, a case fatality rate of 3.88 percent. During the 1st 5 years in which DHF was known to occur in the country, almost all the cases were confined to the Yangon division. By 1975, the disease syndrome had begun to spread and, in that year, 31 percent of the DHF cases occurred in Mandalay and only 29 percent in Yangon. However, Yangon still remains the most serious focus of DHF (2).

According to WHO's Regional Office for South-East Asia (WHO/SEARO) report available at <[http://www.searo.who.int/EN/Section10/Section332/Section2277\\_11962.htm](http://www.searo.who.int/EN/Section10/Section332/Section2277_11962.htm)>, in 2005 the total dengue cases reported was 17 454 and 169 deaths in Myanmar, and the case fatality rate was maintained below one percent. The increase in case load and deaths compared to 2004 is almost 2 times. In 2006, the reported dengue cases and deaths were reduced as compared to 2005. The case fatality rate in 2006 was slightly above one percent. The seasonal trend shows July as the peak month, and cases start increasing from May to peak in July-August.

#### References

1. World Health Organization: Joint plan of action scaling up dengue prevention and control for the cyclone Nargis-affected populations. June-September 2008 (available at <[http://www.who.int/hac/crises/mmr/myanmar\\_joint\\_plan\\_of\\_action\\_dengue\\_2008.pdf](http://www.who.int/hac/crises/mmr/myanmar_joint_plan_of_action_dengue_2008.pdf)>)
2. Prasittisuk C, Andjaparidze AG, Kumar V. WHO South-East Asia Regional Office: Current Status of Dengue/Dengue Haemorrhagic Fever in WHO South-East Asia Region. Dengue Bulletin Volume 22, December 1998 (available at

<[http://www.searo.who.int/en/Section10/Section332/Section520\\_2414.htm](http://www.searo.who.int/en/Section10/Section332/Section520_2414.htm)>).

For maps of Myanmar see  
<<http://www.worldatlas.com/webimage/countrys/asia/lqcolor/mmcolor.htm>>  
and  
<[http://www.lib.utexas.edu/maps/middle\\_east\\_and\\_asia/burma\\_pol\\_96.jpg](http://www.lib.utexas.edu/maps/middle_east_and_asia/burma_pol_96.jpg)>. For the interactive HealthMap/ProMED-mail map of Myanmar with links to other ProMED-mail reports in Myanmar and surrounding countries, see <<http://healthmap.org/r/00IU>>. - Mod.SCM)

\*\*\*\*\*

[4] India (Gujarat)  
Date: Mon 31 Aug 2009  
Source: Times of India [edited]  
<<http://timesofindia.indiatimes.com/NEWS/City/Rajkot/Dengue-outbreak-gets-severe>>

The dengue outbreak in the city is refusing to die down, with 15 cases reported in the city in the past 48 hours. With 3 fresh cases reported on Sunday [30 Aug 2009], the total number of patients being treated for the disease in the city has gone up to 55. One person has died of the disease till date. The patients were admitted from Sukhnathpara, Sardarnagar and Baharwadi areas. On Saturday [29 Aug 2009], there were 7 new cases reported.

"We are doing our best to tackle the situation in the city. The district collector PR Sompura has formed a special team to root out the virus from the city. Daily, 10 teams under this special team are conducting door-to-door surveys along with officials from Amreli municipality, to find out cases," a district health official said.

Apart from health officials, teams from the municipality are also conducting cleanliness drives throughout the city. "We are fumigating all streets of the city every evening to kill mosquitoes carrying the dengue virus and cleaning any water-logged areas. However, our job will get more challenging with the 2nd spell of rainfall that has begun since the past 72 hours," an official from Amreli Nagar Palika said.

Communicated by:  
HealthMap Alerts via  
ProMED-mail <[promed@promedmail.org](mailto:promed@promedmail.org)>

[Fumigating the streets will be of only temporary value. Eliminating the vector mosquito breeding sites in and around houses and other buildings will provide more effective control of the outbreak.

An interactive map of Gujarat, India showing the location of Amreli and vicinity can be accessed at  
<<http://www.maplandia.com/india/gujarat/amreli/amreli/>>. A HealthMap/ProMED-mail interactive map of India can be accessed at <<http://healthmap.org/promed/en?v=22.9.79.6.5>>. - Mod.TY

\*\*\*\*\*

[5] Pakistan  
Date: Wed 26 Aug 2009  
Source: The News [edited]  
<<http://www.thenews.com.pk/print1.asp?id=195030>>

Out of 18 patients of a locality admitted to Holy Family Hospital Saturday [22 Aug 2009] evening, 5 were declared positive for dengue fever by the National Institute of Health (NIH), Islamabad. The confirmation of 5 cases as positive, the 1st in this season in this region of the country, has convinced a number of health experts in town to fear an outbreak of the infection.

"The confirmation of 5 cases proved the existence of *Aedes aegypti*, the female mosquito that causes dengue fever [transmits dengue viruses]-in town. The deaths of 2 children on Friday night and Saturday morning [21 and 22 Aug 2009] due to fever in the area from where 18 patients have been taken might be attributed to dengue fever or DHF," said NIH.

A special team of the District Health Department headed by District Health Officer Dr. Khalid RaMdawa has shifted some 16 children and 2 adults to the HFH after suspecting them cases of dengue fever on Saturday evening [29 Aug 2009] from a village not more than 25 km from here. The team was constituted after the Executive District Officer (Health) received reports of deaths of the 2 children. The deceased as well as all the suspects admitted at HFH have been living in a cluster of nearly a dozen families settled near the village Larr in Dhoke Jhando, located in union council Thatta Khalil of Taxila.

All the 5 cases confirmed so far for the infection range between 3 and 8 years of age. The HFH has sent blood samples of a total of 18 suspected patients of dengue fever to NIH for dengue serology, of which 5 have been confirmed positive, 9 negative, while results of 4 cases have not been finalised as yet.

Experts do believe that with the detection of 5 confirmed cases in the outskirts of twin cities of Islamabad and Rawalpindi, a rising threat of an outbreak of dengue and DHF seems to be lurking, as the disease has a tendency to occur in epidemics and outbreaks and spreads like wild fire.

Head of Pathology Department at Rawalpindi Medical College Professor Dr. Abbas Hayat has repeatedly expressed to "The News" that the spikes of dengue fever, if they occur repeatedly, might be more deadly and might result in severe complications, including hemorrhagic manifestations. Two months back, he said that the situation might be alarming after the monsoon, as the climate after monsoon is considered to be the most suitable for the breeding of the mosquito *Aedes aegypti* that causes [transmits the viruses that cause] DF and DHF. DHF is a cause of disease and death primarily among children in tropical Asia.

Studies have revealed that people at a higher risk for dengue transmission are children, travellers and tourists, whereas adults residing in endemic areas are also susceptible to contracting the disease.

The District Health Department has already claimed that it has performed fogging and sprinkled insecticidal spray in and around Larr; however, experts believe that a continuous surveillance is needed at this time to avert a possible outbreak of dengue fever.

[Byline: Muhammad Qasim]

--  
Communicated by:  
HealthMap Alerts via  
ProMED-mail <[promed@promedmail.org](mailto:promed@promedmail.org)>

[A HealthMap/ProMED-mail interactive map of Pakistan can be accessed at <<http://healthmap.org/promed/en?v=30,69,4,5>>. - Mod.TY]

\*\*\*\*\*  
[6] Mauritius  
Date: Thu 17 Aug 2009  
Source: Eurosurveillance [edited]  
<<http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19314>>

[The following article presents an interesting approach for mapping dengue outbreaks. - Mod.TY]

#### Abstract

During the month of June 2009, Mauritius experienced a short-lived outbreak of dengue fever localised in its capital city Port Louis. *Aedes albopictus*, a secondary vector of dengue viruses, was the probable vector. We introduce a method which combines Google Earth images, stochastic cellular automata and scale free network ideas to map this outbreak. The method could complement other techniques to forecast the evolution of potential localised mosquito-borne viral outbreaks in Mauritius and in at-risk locations elsewhere for public health planning purposes.

Reference:

71

Ramchurn SK, Moheeput K, Goorah SS. 2009. An analysis of a short-lived outbreak of dengue fever in Mauritius. Euro Surveill 14:19314.  
Available online:  
<<http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19314>>.

--  
Communicated by:  
ProMED-mail <[promed@promedmail.org](mailto:promed@promedmail.org)>

[A HealthMap/ProMED-mail interactive map of Mauritius can be accessed at: <<http://healthmap.org/promed/en?v=-20,3,57,9,5>>. - Mod.TY]

\*\*\*\*\*  
[7] Dominican Republic  
Date: Fri 28 Aug 2009  
Source: El Nuevo Diario [in Spanish, trans. Mod.TY, edited]  
<<http://elnuevodiario.com.do/app/article.aspx?id=165814>>

A dozen people, including adults and children, are affected by dengue, with one of these in a serious state, reported the representative of the municipal district Canca La Reina, Licenciado Manuel Antonio Rojas. The district executive said that the dreaded dengue outbreak that hit the different communities of Canca la Reina is produced by a strong wave of mosquitoes left by the passage of recent rains that have fallen in the past weeks. He recalled that in 2003, 4 people died in this community, affected by dengue, which is the reason that a call was issued to the provincial Health Directorate so that urgent measures would be taken together with the municipal government to avoid a repetition of that history. Tony Rojas said that the municipal government has maintained operations to eradicate trash, mosquito breeding sites and wells where the mosquito that is the dengue vector breeds.

He pointed out that the outbreak has become present in various communities of Canca La Reina, but the main effects have occurred in the Manhattan sector, where there is an affected child in an extremely serious state. "We have called Public Health on other occasions to carry out work against the dengue vector mosquito, but they have not reciprocated," complained Representative Tony Rojas. He said that the situation is very serious because there are more than 12 people affected by dengue.

Representative Tony Rojas stated that the municipal government is coordinating an urgent operation to tackle the epidemic of mosquitoes, stressing that the health of the population of Canca La Reina is in danger.

[Byline: Arcadio B. Rojas]

--  
Communicated by:  
HealthMap Alerts via  
ProMED-mail <[promed@promedmail.org](mailto:promed@promedmail.org)>

[A HealthMap/ProMED-mail interactive map showing the Dominican Republic and its location in the Caribbean can be accessed at <<http://healthmap.org/promed/en?v=18,9,-70,5,5>>. - Mod.TY]

[see also:  
Dengue/DHF update 2009 (34) [20090823.2977](#)  
Dengue/DHF update 2009 (33) [20090817.2908](#)  
Dengue/DHF update 2009 (32) [20090811.2864](#)  
Dengue/DHF update 2009 (31) [20090803.2723](#)  
Dengue/DHF update 2009 (29) [20090720.2574](#)  
Dengue/DHF update 2009 (28) [20090713.2501](#)  
Dengue/DHF update 2009 (27) [20090706.2425](#)  
Dengue/DHF update 2009 (26) [20090629.2353](#)  
Dengue/DHF update 2009 (25) [20090622.2286](#)  
Dengue/DHF update 2009 (24) [20090614.2211](#)  
Dengue/DHF update 2009 (23) [20090608.2121](#)  
Dengue/DHF update 2009 (22) [20090601.2040](#)  
Dengue/DHF update 2009 (21) [20090525.1952](#)  
Dengue/DHF update 2009 (20) [20090518.1868](#)  
Dengue/DHF update 2009 (19) [20090512.1774](#)

Dengue/DHF update 2009 (18) 20090505.1437  
 Dengue/DHF update 2009 (17) 20090428.1555  
 Dengue/DHF update 2009 (16) 20090419.1485  
 Dengue/DHF update 2009 (14) 20090406.1341  
 Dengue/DHF update 2009 (13) 20090331.1227  
 Dengue/DHF update 2009 (12) 20090314.1199  
 Dengue/DHF update 2009 (08) 20090216.0650  
 Dengue/DHF update 2009 (06) 20090210.0603]

.....sh/ty/map/jv  
 #####  
 \*\*\*\*\*  
 PROMED-mail makes every effort to verify the reports that  
 are posted, but the accuracy and completeness of the  
 information, and of any statements or opinions based  
 thereon, are not guaranteed. The reader assumes all risks in  
 using information posted or archived by PROMED-mail. ISID  
 and its associated service providers shall not be held  
 responsible for errors or omissions or held liable for any  
 damages incurred as a result of use or reliance upon posted  
 or archived material.  
 \*\*\*\*\*  
 Become a PROMED-mail Premium Subscriber at  
 <http://www.isid.org/PromedmailPremium.shtml>  
 \*\*\*\*\*  
 Visit PROMED-mail's web site at <http://www.promedmail.org>  
 Send all items for posting to: [promed@promedmail.org](mailto:promed@promedmail.org)  
 (NOT to an individual moderator). If you do not give your  
 full name and affiliation, it may not be posted. Send  
 commands to subscribe/unsubscribe, get archives, help,  
 etc. to: [mailroom@promedmail.org](mailto:mailroom@promedmail.org). For assistance from a  
 human being send mail to: [owner-promed@promedmail.org](mailto:owner-promed@promedmail.org).  
 #####  
 \*\*\*\*\*  
 #####

about ISID | Membership | Programs | Publications | Resources  
 14th ISID site map | ISID home

©2001, 2009 International Society for Infectious Diseases  
 All Rights Reserved.  
 Read our [Privacy Guidelines](#).  
 Use of this web site and related services is governed by the [Terms of Service](#).

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 2009. 9. 16	新医薬品等の区分 該当なし	総合機構処理欄
一般的名称 解凍人赤血球濃厚液	研究報告の公表状況	Aguilar PV, Camargo W, Vargas J, Guevara C, Roca Y, Felices V, Laguna-Torres VA, Tesh R, Ksiazek TG, Kochel TJ. Emerg Infect Dis. 2009 Sep;15(9):1526-8.	公表国	使用上の注意記載状況・ その他参考事項等
販売名(企業名) 解凍赤血球濃厚液「日赤」(日本赤十字社) 照射解凍赤血球濃厚液「日赤」(日本赤十字社) 解凍赤血球-LR「日赤」(日本赤十字社) 照射解凍赤血球-LR「日赤」(日本赤十字社)			ボリビア	
研究報告の概要	<p>○ボリビア出血熱の再興(2007~2008年)          ボリビア出血熱(BHF)は、1959年に、ボリビア東部でのアウトブレイク発生時に初めて報告された。しかし、病原体のマチュポウイルスが死亡患者の脾臓から分離されたのは、1963年であった。1976~1993年は症例が報告されなかったが、1994年にアウトブレイクが起こり、以降、散发症例が観察されていた。          2007年の2月、3月に、BHF疑い症例20例以上(死亡3例)がボリビア北東部ベニの保健当局(SEDES)に報告されていた。2008年2月には、疑い症例200例以上(死亡12例)がSEDESに報告された。          疑い例患者から採取した血清19検体について、間接免疫蛍光法とPCRで検査を行った。アレナウイルスの分離株が5株得られ、遺伝子配列の解析からマチュポウイルスであることが確認された。</p>		<p>解凍赤血球濃厚液「日赤」          照射解凍赤血球濃厚液「日赤」          解凍赤血球-LR「日赤」          照射解凍赤血球-LR「日赤」</p> <p>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</p>	
報告企業の意見	今後の対応			
2007年の2月、3月に、ボリビア出血熱の疑い症例20例以上、2008年2月には200例以上が報告され、19例について検査したところ、5例でマチュポウイルスが確認されたとの報告である。	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。			





Table. Characteristics *Mycobacterium bovis* BCG complication cases, Taiwan, 2005–2007\*

Patient no.	Sex/age at diagnosis, y	Year reported	Specimen	Diagnosis and site of involvement
1	F/2	2005	Biopsy sample	BCG osteitis/osteomyelitis, right ankle
2	M/1	2005	Bacterial isolate	Subcutaneous abscess, left anterior chest wall
3	M/2	2005	Bacterial isolate	Severe combined immunodeficiency, disseminated BCGitis
4	M/9	2005	Bacterial isolate	Suppurative lymphadenitis
5	F/1	2005	Bacterial isolate	Injection-site abscess
6	M/1	2005	Biopsy sample	Suppurative lymphadenitis
7	M/2	2006	Bacterial isolate	BCG osteitis/osteomyelitis, right distal femur
8	M/2	2006	Bacterial isolate	BCG osteitis/osteomyelitis
9	F/1	2006	Bacterial isolate	BCG osteitis/osteomyelitis, left distal femur
10	F/1	2006	Bacterial isolate	BCG osteitis/osteomyelitis, left distal radius
11	F/2	2007	Bacterial isolate	BCG osteitis/osteomyelitis, right knee
12	M/1	2007	Bacterial isolate	Subcutaneous abscess, left wrist
13	M/2	2007	Biopsy sample	BCG osteitis/osteomyelitis, right ankle
14	F/1	2007	Bacterial isolate	Suppurative lymphadenitis
15	M/2	2007	Bacterial isolate	BCG osteitis/osteomyelitis, left proximal tibia

\*BCGitis, disseminated BCG infection.

age. In particular, suspected childhood TB patients without an identifiable TB contact and with normal immune status were subjected to further investigations. Multidisciplinary management, including enhanced laboratory diagnosis of atypical bony lesions in infants and children, is recommended for any suspected TB infection. Once BCG-related infection is confirmed, medical treatment has to be consistent.

**Acknowledgments**

We thank Steve H. S. Kuo, Toru Mori, and Jen Suo for comments and Chen-Che Chiu and Chien-Chung Huang for excellent technical assistance.

This study was supported by grant DOH97-DC-2501 from Taiwan Centers for Disease Control, Department of Health.

**Ruwen Jou, Wei-Lun Huang, and Wei-Ju Su**

Author affiliation: Taiwan Centers for Disease Control, Taipei, Taiwan

DOI: 10.3201/eid1509.081336

**References**

1. Taiwan Centers for Disease Control. Statistics of communicable diseases and surveillance report, tuberculosis, 2005–2007. Taipei, Taiwan: Taiwan Centers for Disease Control.

2. Yamamoto S, Yamamoto T. Historical review of BCG vaccine in Japan. *Jpn J Infect Dis.* 2007;60:331–6.

3. Plotkin SA, Orenstein WA, Offit PA. Vaccines, 5th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2008:867.

4. Kim SH, Kim SY, Eun BW, Yoo WJ, Park KU, Choi EH, et al. BCG osteomyelitis caused by the BCG Tokyo strain and confirmed by molecular method. *Vaccine.* 2008;26:4379–81.

5. Toida I, Nakata S. Severe adverse reaction with Japanese BCG vaccine: a review. *Kekkaku.* 2007;82:809–24.

6. Sheu GC, Yang SL, Lee CD, Liu DP. Adverse events induced by BCG immunization in Taiwan. *Taiwan Epidemiology Bulletin.* 2008;24:357–71.

7. Yeboah-Manu D, Yates MD, Wilson SM. Application of a simple multiplex PCR to aid in routine work of the mycobacterium reference laboratory. *J Clin Microbiol.* 2001;39:4166–8. DOI: 10.1128/JCM.39.11.4166-4168.2001

8. Scorpio A, Collins D, Whipple D, Cave D, Bates J, Zhang Y. Rapid differentiation of bovine and human tubercle bacilli based on a characteristic mutation in the bovine pyrazinamidase gene. *J Clin Microbiol.* 1997;35:106–10.

9. Bedwell J, Kairo SK, Behr MA, Bygraves JA. Identification of substrains of BCG vaccine using multiplex PCR. *Vaccine.* 2001;19:2146–51. DOI: 10.1016/S0264-410X(00)00369-8

10. World Health Organization. Supplementary information on vaccine safety by World Health Organization: Part 2: Background and rates of adverse events following immunization. Geneva: The Organization; 2000.

Address for correspondence: Ruwen Jou, Reference Laboratory of Mycobacteriology, Research and Diagnostic Center, Taiwan Centers for Disease Control, Department of Health, 161 Kun-Yang St, Nan-Kang, Taipei, 115, Taiwan, Republic of China; email: rwj@cdc.gov.tw

**Reemergence of Bolivian Hemorrhagic Fever, 2007–2008**

To the Editor: Bolivian hemorrhagic fever (BHF) was first described in 1959 during outbreaks affecting isolated human communities in eastern Bolivia. However, it was not until 1963 that the etiologic agent, Machupo virus, was isolated from the spleen of a patient who died from this disease (1). Although no cases were reported between 1976 and 1993, an outbreak occurred in 1994 and sporadic cases have been observed since then.

In February and March 2007, at least 20 suspected BHF cases (3 fatal) were reported to the El Servicio Departamental de Salud (SEDES) in Beni,

Bolivia. In February 2007, physicians at the Hospital Santa Maria Magdalena reported 3 male patients (23, 27, and 29 years of age), who worked at a ranch in Magdalena, Itenez Province (13°14'0"S, 64°12'0"W). The patients sought treatment for fever, gingivorrhagia, petechiae, nausea, hematemesis, melena and tremors; clinical laboratory examinations showed thrombocytopenia (<130,000 cells/mm<sup>3</sup>), leukopenia (<3,900 cells/mm<sup>3</sup>), and hematuria. Because physicians suspected BHF, patients received supportive therapy, including intravenous hydration, corticoids, antipyretic drugs, antimicrobial drugs, and blood transfusions from donors who had survived Machupo virus infection. Nonetheless, 2 of the patients died 3 and 4 days after admission.

In February 2008, at least 200 suspected new BHF cases (12 fatal) of BHF were reported to SEDES. A febrile hemorrhagic illness developed in a 19-year-old man from Huacaraje, Itenez Province (13°33'S, 63°45'W). On first examination at the Hospital Santa Maria Magdalena, the patient had fever, tremor, gingivorrhagia, petechiae, bruises, asthenia, and anorexia and was admitted with a presumptive diagnosis of BHF. Despite supportive treatment (including administration of plasma from a BHF survivor), his condition worsened; hematemesis, melena, hematochezia, hematuria, anuria, respiratory alkalosis, and metabolic acidosis developed in the patient, eventually resulting in death. A fifth case was detected in a 46-year-old man from San Ramon, Mamore Province (13°17'0"S, 64°43'0"W). A febrile hemorrhagic illness developed in the patient and he was admitted to the Hospital German Busch in Trinidad. The patient recently had been hired as a farm worker. When first seen by the attending physicians, he had fever, thrombocytopenia, leukopenia, petechias, tremors, gingivorrhagia, and dehydration, consistent with symptoms of BHF. The patient received hydra-

tion, corticoids, antipyretic therapy, and a plasma transfusion from a BHF survivor. The patient's condition improved and he was subsequently discharged from the hospital ≈10 days after admission.

Nineteen serum samples collected from suspected BHF patients, including the cases described above, were sent to Centro Nacional de Enfermedades Tropicales (Santa Cruz, Bolivia) and the US Naval Medical Research Center Detachment (Lima, Peru) for testing. Serum was injected into Vero and C6/36 cells; 10 days later, the cells were tested for flaviviruses, alphaviruses, and arenaviruses by indirect immunofluorescent assay and PCR. Five arenavirus isolates were obtained from the patients described in this report.

Viral RNA was extracted from the cell culture supernatant and the small

(S) segment (≈3,200 bp) was amplified and sequenced. Phylogenetic analyses were conducted using the neighbor-joining and maximum likelihood program implemented in PAUP 4.0 software (Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA, USA). Sequence analyses confirmed the isolates as Machupo virus (Figure). Eight major Machupo phylogenetic lineages were described based on partial sequence of the nucleocapsid protein gene (2). We observed a similar tree topology based on the glycoprotein gene sequences (Figure). Two distinct lineages were distinguished among the isolates from the Itenez and Mamore provinces: V and VII and I and II, respectively. The recent isolates (2007–2008) from Magdalena and Huacaraje (Itenez Province) grouped within lineage V whereas the 2008 isolate from San

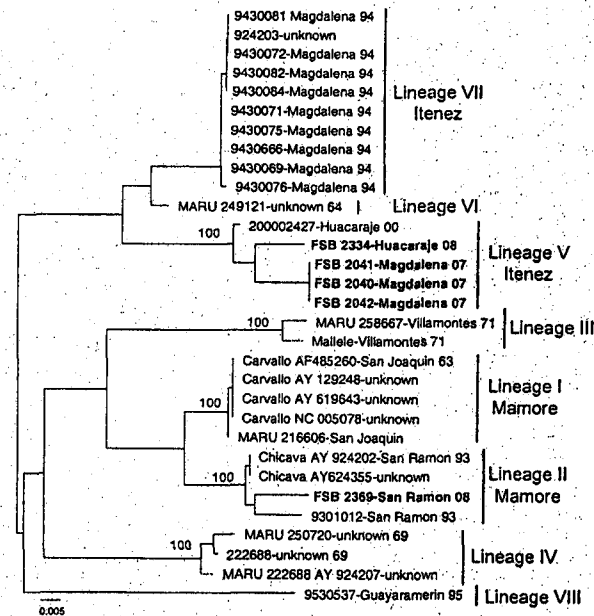


Figure. Neighbor-joining phylogenetic tree of Machupo virus derived from the glycoprotein precursor gene sequence. The neighbor-joining and maximum likelihood analyses yielded similar phylogenetic trees. Boldface indicates 2007–2008 isolates. Numbers indicate bootstrap values for 1,000 replicates. Scale bar indicates nucleotide substitutions per site.



Ramon (Mamore Province) belonged to lineage II. These isolates showed 10% nucleotide difference within the S segment and a 6% amino acid difference within the glycoprotein precursor gene. Similar genetic diversity has been described with Machupo virus and other arenaviruses (2-4). Sequences generated were deposited in GenBank (accession nos. FJ696411, FJ696412, FJ696413, FJ696414, and FJ696415).

It is not known whether lineage VII and I viruses continue to circulate or have been replaced by lineage V and II viruses, respectively. This study confirms the long-term maintenance of distinct phylogenetically forms of Machupo virus in a small area within Beni. Although the distribution of the Machupo virus rodent reservoir (*Calomys callosus*) extends beyond the geographic area of the Machupo cases described, factors that limit the endemic distribution of the virus remain unknown. However, population differences among *C. callosus* may account for the natural fidelity of BHF (5). Studies are needed to fully identify and understand the ecology of the rodent reservoir and Machupo virus transmission.

Machupo virus continues to cause sporadic cases and focal outbreaks of BHF in Bolivia. We describe 5 confirmed human cases (3 fatal) of Machupo virus infection in Beni Department, Bolivia, an area in which BHF is endemic. That all 5 patients were farmers suggests their infections were probably acquired through occupational exposure. Although all the patients received plasma transfusion from patients who had survived BHF infection, 3 patients still died. An early diagnosis and the rapid administration of Machupo immune plasma before the hemorrhagic phase may increase the chance of survival, as has been observed with other arenavirus infections (6-8).

**Acknowledgments**

We thank Roxana Caceda and Juan Sulca for excellent technical assistance and the personnel of the Bolivian Ministry of Health for supporting our febrile illness surveillance study. Local activities were approved by the Ministry of Health of Bolivia and were developed by GENETROP personnel through local coordinators.

This study was funded by the United States Department of Defense Global Emerging Infections Systems Research Program, Work Unit No. 800000.82000.25GB.B0016.

**Patricia V. Aguilar,**  
**Wilfredo Camargo,**  
**Jorge Vargas,**  
**Carolina Guevara, Yelín Roca,**  
**Vidal Felices, V. Alberto**  
**Laguna-Torres, Robert Tesli,**  
**Thomas G. Ksiazek,**  
**and Tadeusz J. Kochel**

Author affiliations: US Naval Medical Research Center, Detachment, Lima, Peru (P.V. Aguilar, C. Guevara, V. Felices, V.A. Laguna-Torres, T. Kochel); Centro Nacional de Enfermedades Tropicales, Santa Cruz, Bolivia (J. Vargas, Y. Roca); El Servicio Departamental de Salud, Beni, Bolivia (W. Camargo); University of Texas Medical Branch, Galveston, Texas, USA (R. Tesli); and Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, USA (T.G. Ksiazek).

DOI: 10.3201/eid1509.090017

**References**

1. Johnson KM, Wiebenga NH, Mastenize RB, Kuns ML, Tauraso NM, Shelkoff A, et al. Virus isolations from human cases of hemorrhagic fever in Bolivia. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1965;118:113-8.
2. Calimat MN, Milazzo ML, Rollin PE, Nichol ST, Bowen MD, Ksiazek TG, et al. Genetic diversity among Bolivian arenaviruses. *Virus Res*. 2009;140:24-31. DOI: 10.1016/j.virus.2008.10.016
3. Fulhouser CF, Charu RN, Weaver SC, Ksiazek TG, Bradley RD, Milazzo ML, et al. Geographic distribution and genetic diversity of Whitewater Arroyo virus in the southwestern United States. *Emerg Infect Dis*. 2001;7:403-7.

**References**

4. Weaver SC, Salas RA, de Marzouen N, Fulhouser CF, Trivassos de Rosa AP, Duno G, et al. Extreme genetic diversity among filarial virus (*Arenaviridae*) isolates from western Venezuela. *Virology*. 2001;285:110-8. DOI: 10.1006/viro.2001.0954
5. Salazar-Bruvo J, Dragoo JW, Bowen MD, Peters CJ, Ksiazek TG, Yates TL. Natural fidelity in Bolivian hemorrhagic fever and the systematics of the reservoir species. *Infect Genet Evol*. 2002;1:191-9. DOI: 10.1016/S1567-1348(02)00266-6
6. Fisher-Hoch SP, Tomori O, Nasidi A, Peres-Orozco GI, Fakile Y, Hunsberger L, et al. Review of cases of nosocomial Lassa fever in Nigeria: the high price of poor medical practice. *BMJ*. 1995;311:857-9.
7. Maltezoglu II, Fernandez NJ, de Damiatio AJ. Efficacy of immune plasma in treatment of Argentine hemorrhagic fever and association between treatment and a late neurological syndrome. *Lancet*. 1979;2:1216-7. DOI: 10.1016/S0140-6736(79)92355-3
8. Erma DA, Briggler AM, Sanchez Z. Treatment of Argentine hemorrhagic fever. *Antiviral Res*. 2008;78:132-9. DOI: 10.1016/j.antiviral.2007.10.010

Address for correspondence: Patricia V. Aguilar, US Naval Medical Research Center Detachment, 3250 Lima Pl, Washington, DC 20521-3220, USA. email: patricia.aguilar@med.navy.mil

**Relapsing Fever Spirochete in Seabird Tick, Japan**

**To the Editor:** Tick-borne relapsing fever (TBRF) is caused by infection with spirochetes belonging to the genus *Borrelia*. We previously reported a human case of febrile illness suspected to be TBRF on the basis of serologic examination results; the vector most likely was a genus *Carios* tick that had fed on a seabird colony (1). However, surveillance of ticks in the area did not identify *Borrelia* spp. In any of the *Carios* ticks sampled (2). In 2007 and 2008, a borreliosis investigation was conducted on Kutsujima Island (35°17'N, 135°44'E) because

**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
一般的名称	人赤血球濃厚液	2009. 10. 14	該当なし	
販売名(企業名)	赤血球濃厚液-LR「日赤」(日本赤十字社) 照射赤血球濃厚液-LR「日赤」(日本赤十字社)	研究報告の公表状況	公表国 米国	
研究報告の概要	<p>○慢性疲労症候群患者の血液細胞における感染性レトロウイルスXMRVの検出 慢性疲労症候群(CFS)は原因不明の疾患で、全世界に1700万人の患者がいると推定されている。CFS患者の末梢血単核細胞(PBMCs)を検討することにより、患者101名中68名(67%)、健康者の対照群218名中8名(3.7%)において、ヒトガンマレトロウイルスの一種であるxenotropic murine leukemia virus-related virus(XMRV)のDNAを同定した。細胞培養試験では、患者由来XMRVに感染性があり、細胞結合性感染、無細胞性感染のいずれも起こりうることが判明した。CFS患者由来の活性化PBMCs、B細胞、T細胞、血漿への暴露後に、非感染初代リンパ球と指標細胞株において二次感染が成立した。これらの知見はXMRVがCFSの病原因子である可能性を提起する。</p>			<p>使用上の注意記載状況・その他参考事項等</p> <p>赤血球濃厚液-LR「日赤」 照射赤血球濃厚液-LR「日赤」</p> <p>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</p>
報告企業の意見	<p>慢性疲労症候群(CFS)患者の血液細胞から感染性レトロウイルスXMRVのDNAが検出され、XMRVがCFSの病原因子である可能性が提起されたとの報告である。</p>			
今後の対応	<p>今後も引き続き、新たなウイルス等に関する情報の収集に努める。</p>			

12

the pathophysiology of chytridiomycosis appears to be disruption to the osmoregulatory functioning of the skin and consequent osmotic imbalance that leads to cardiac standstill.

To test whether treating electrolyte abnormalities would reduce the clinical signs of disease, we administered an oral electrolyte supplement to *L. caerulea* in the terminal stages of infection, when they lost the righting reflex and could no longer correct their body positions (20). Frogs under treatment recovered a normal posture and became more active; one individual recovered sufficiently to climb out of the water onto the container walls, and two individuals were able to jump to avoid capture. These signs of recovery were not observed in any untreated frogs. In addition, treated frogs lived >20 hours longer than untreated frogs [mean time after treatment  $\pm$  SEM: treated frogs ( $N=9$ ),  $32 \pm 2.8$  hours; control frogs ( $N=6$ ),  $10.7 \pm 2.2$  hours; Student's *t* test,  $P < 0.001$ ]. All treated frogs continued to shed skin and ultimately died from the infection, as expected. It is unlikely that electrolyte treatment could prevent death unless the epidermal damage caused by *Bd* is reversed. Although amphibians can generally tolerate greater electrolyte fluctuations than other terrestrial vertebrates (18), we suggest that depletion of electrolytes, especially potassium, is important in the pathophysiology of chytridiomycosis. Amphibian plasma potassium concentrations are maintained at constant levels across seasons (27), and even moderate hypokalemia is dangerous in humans (28).

Our results support the epidermal dysfunction hypothesis, which suggests that *Bd* disrupts cutaneous osmoregulatory function, leading to electrolyte imbalance and death. The ability of *Bd* to

compromise the epidermis explains how a superficial skin fungus can be fatal to many species of amphibians; their existence depends on the physiological interactions of the skin with the external environment (16–19). Disease outbreaks capable of causing population declines require the alignment of multiple variables, including a life-compromising pathophysiology (1). Resolving the pathogenesis of chytridiomycosis is a key step in understanding this unparalleled pandemic.

#### References and Notes

- P. Oszkaj, A. A. Cunningham, A. D. Hyatt, *Divers. Distrib.* 9, 141 (2003).
- F. de Castro, B. Bolker, *Ecol. Lett.* 8, 117 (2005).
- L. Berger et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 95, 9031 (1998).
- D. B. Wake, V. T. Vredenburg, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 105, 11466 (2008).
- H. McCallum, *Conserv. Biol.* 19, 1421 (2005).
- K. R. Lips et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103, 3165 (2006).
- L. F. Skerratt et al., *EcoHealth* 4, 125 (2007).
- L. M. Schloegel et al., *EcoHealth* 3, 35 (2006).
- D. C. Woodhams, R. A. Alford, *Conserv. Biol.* 19, 1449 (2005).
- K. M. Mitchell, T. S. Churcher, T. W. J. Garner, M. C. Fisher, *Proc. R. Soc. London Ser. B* 275, 329 (2008).
- M. Schaefer, B. I. Eisenstiel, G. Medoff, in *Mechanisms of Microbial Disease* (Williams & Wilkins, Baltimore, 1998), pp. 419–439.
- J. E. Longcore, A. P. Pessier, D. K. Nichols, *Mycologia* 91, 219 (1999).
- L. Berger et al., *Dis. Aquat. Organ.* 68, 65 (2005).
- D. C. Woodhams et al., *Anim. Conserv.* 10, 409 (2007).
- E. B. Rosenblum, J. E. Stajick, N. Maddox, M. B. Eisen, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 105, 17034 (2008).
- H. Heatwole, in *Amphibian Biology, Vol. 1. The Integument*, H. Heatwole, G. T. Bartholomew, Eds. (Surrey Beatty, Chipping Norton, New South Wales, 1994), pp. 98–168.
- R. G. Boulenger, D. F. Stiller, D. P. Toews, in *Environmental Physiology of the Amphibians*, M. E. Feder, W. W. Burggren, Eds. (Univ. of Chicago Press, Chicago, 1992), pp. 81–124.

- I. J. Deyrup, in *Physiology of the Amphibia*, J. A. Moore, Ed. (Academic Press, New York, 1964), vol. 1, pp. 251–315.
- K. M. Wright, B. R. Whitaker, in *Amphibian Medicine and Captive Husbandry*, K. M. Wright, B. R. Whitaker, Eds. (Krieger, Malabar, FL, 2001), pp. 318–319.
- J. Voytes et al., *Dis. Aquat. Organ.* 77, 113 (2007).
- L. Berger, G. Marantelli, L. F. Skerratt, R. Speare, *Dis. Aquat. Organ.* 68, 47 (2005).
- D. J. Benos, L. J. Mandel, R. S. Balaban, *J. Gen. Physiol.* 73, 307 (1979).
- R. H. Alvarado, T. H. Dietz, I. L. Mullen, *Am. J. Physiol.* 229, 869 (1975).
- G. A. Castillo, G. G. Orce, *Comp. Biochem. Physiol. A* 118, 1145 (1997).
- N. A. Paradis, H. R. Halperin, R. M. Nowak, in *Cardiac Arrest: The Science and Practice of Resuscitation Medicine* (Williams & Wilkins, Baltimore, 1996), pp. 621–623.
- See supporting material on Science Online.
- D. R. Robertson, *Comp. Biochem. Physiol. A* 60, 387 (1978).
- F. J. Gennari, N. Engl. J. Med. 339, 451 (1998).
- We thank A. Hyatt and V. Olsen for assistance with PCR and S. Bell, J. Browne, S. Cashins, S. Garland, M. Holdsworth, C. Manicom, L. Owens, R. Puschendorf, K. Rose, E. Rosenblum, D. Rudd, A. Storfer, J. VanDerwal, B. Voytes, and J. Warner for project assistance and editing. Supported by Australian Research Council Discovery Project grant DP0452826, Australian Government Department of Environment and Heritage grant RT 43/2004, and the Wildlife Preservation Society of Australia. Animals were collected with permission from Queensland Parks and Wildlife Service (scientific permits WISPO3864106 and WISPO4143907; movement permit WIMMO4381307) and New South Wales Parks and Wildlife Service (import license IEO705693).

#### Supporting Online Material

www.sciencemag.org/cgi/content/full/326/5952/052

Materials and Methods  
SOM Text  
Figs. S1 and S2  
Tables S1 and S2  
References

26 May 2009; accepted 26 August 2009  
10.1126/science.1176765

enteroviruses, have been implicated as possible environmental triggers of CFS (1). Patients with CFS often have active  $\beta$  herpesvirus infections, suggesting an underlying immune deficiency.

The recent discovery of a gammaretrovirus, xenotropic murine leukemia virus-related virus (XMRV), in the tumor tissue of a subset of prostate cancer patients prompted us to test whether XMRV might be associated with CFS. Both of these disorders, XMRV-positive prostate cancer and CFS, have been linked to alterations in the antiviral enzyme RNase L (3–5). Using the Whittemore Peterson Institute's (WPI's) national

<sup>1</sup>Whittemore Peterson Institute, Reno, NV 89557, USA. <sup>2</sup>Laboratory of Experimental Immunology, National Cancer Institute-Frederick, Frederick, MD 21701, USA. <sup>3</sup>Department of Cancer Biology, The Lerner Research Institute, The Cleveland Clinic Foundation, Cleveland, OH 44195, USA. <sup>4</sup>Laboratory of Cancer Prevention, National Cancer Institute-Frederick, Frederick, MD 21701, USA. <sup>5</sup>Advanced Technology Program, National Cancer Institute-Frederick, Frederick, MD 21701, USA. <sup>6</sup>Basic Research Program, Scientific Applications International Corporation, National Cancer Institute-Frederick, Frederick, MD 21701, USA.

\*These authors contributed equally to this work.  
†To whom correspondence should be addressed. E-mail: judym@wpiinstitute.org

tissue repository, which contains samples from well-characterized cohorts of CFS patients, we isolated nucleic acids from PBMCs and assayed the samples for XMRV gag sequences by nested polymerase chain reaction (PCR) (5, 6). Of the 101 CFS samples analyzed, 68 (67%) contained XMRV gag sequence. Detection of XMRV was confirmed in 7 of 11 WPI CFS samples at the Cleveland Clinic by PCR-amplifying and sequencing segments of XMRV env [352 nucleotides (nt)] and gag (736 nt) in CFS PBMC DNA (Fig. 1A) (6). In contrast, XMRV gag sequences were detected in 8 of 218 (3.7%) PBMC DNA specimens from healthy individuals. Of the 11 healthy control DNA samples analyzed by PCR for both env and gag, only one sample was positive for gag and none for env (Fig. 1B). In all positive cases, the XMRV gag and env sequences were more than 99% similar to those previously reported for prostate tumor-associated strains of XMRV (VP62, VP35, and VP42) (fig. S1) (5).

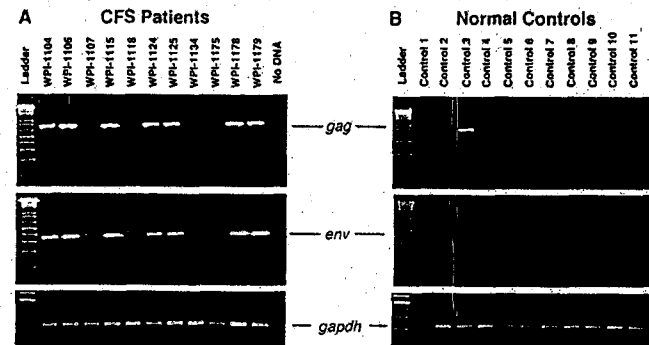


Fig. 1. XMRV sequences in PBMC DNA from CFS patients. Single-round PCR results for gag, env, and gapdh sequences in PBMCs of (A) CFS patients and (B) healthy controls are shown. The positions of the amplicons are indicated and DNA markers (ladder) are shown. These are representative results from one group of 20 patients.

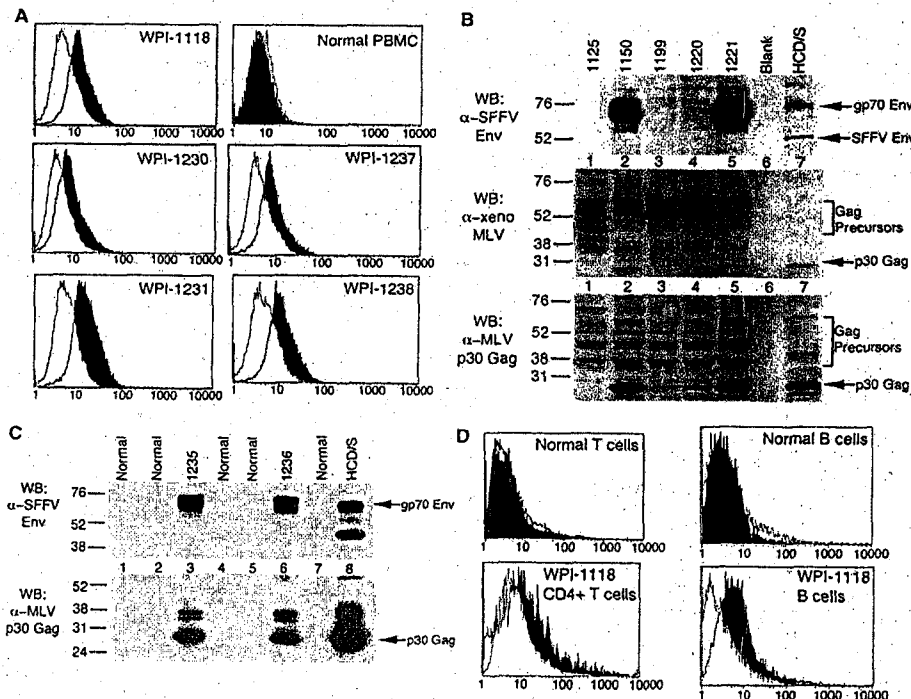


Fig. 2. Expression of XMRV proteins in PBMCs from CFS patients. (A) PBMCs were activated with phytohemagglutinin and interleukin-2, reacted with a mAb to MLV p30 Gag, and analyzed by IFC. (B) Lysates of activated PBMCs from CFS patients (lanes 1 to 5) were analyzed by Western blots using rat mAb to SFFV Env (top panel), goat antiserum to MLV p30 Gag (bottom panel). Lane 6, SFFV-infected HCD-57 cells. Molecular weight (MW) markers in kilodaltons are at left. (C) CD4<sup>+</sup> T cells (left) or CD19<sup>+</sup> B cells (right) were purified, activated, and examined by flow cytometry for XMRV Gag with a mAb to MLV p30 Gag.

## Detection of an Infectious Retrovirus, XMRV, in Blood Cells of Patients with Chronic Fatigue Syndrome

Vincent C. Lombardi,<sup>1,2</sup> Francis W. Ruscetti,<sup>2\*</sup> Jaydip Das Gupta,<sup>3</sup> Max A. Pfost,<sup>1</sup> Kathryn S. Hagen,<sup>2</sup> Daniel L. Peterson,<sup>1</sup> Sandra K. Ruscetti,<sup>4</sup> Rachel K. Bagni,<sup>5</sup> Carl Petrow-Sadowski,<sup>6</sup> Bert Gold,<sup>2</sup> Michael Dean,<sup>2</sup> Robert H. Silverman,<sup>3</sup> Judy A. Mikovits<sup>1,†</sup>

Chronic fatigue syndrome (CFS) is a debilitating disease of unknown etiology that is estimated to affect 17 million people worldwide. Studying peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) from CFS patients, we identified DNA from a human gammaretrovirus, xenotropic murine leukemia virus-related virus (XMRV), in 68 of 101 patients (67%) as compared to 8 of 218 (3.7%) healthy controls. Cell culture experiments revealed that patient-derived XMRV is infectious and that both cell-associated and cell-free transmission of the virus are possible. Secondary viral infections were established in uninfected primary lymphocytes and indicator cell lines after their exposure to activated PBMCs, B cells, T cells, or plasma derived from CFS patients. These findings raise the possibility that XMRV may be a contributing factor in the pathogenesis of CFS.

Chronic fatigue syndrome (CFS) is a disorder of unknown etiology that affects multiple organ systems in the body. Patients with CFS display abnormalities in immune sys-

tem function, often including chronic activation of the innate immune system and a deficiency in natural killer cell activity (1, 2). A number of viruses, including ubiquitous herpesviruses and

Sequences of full-length XMRV genomes from two CFS patients and a partial genome from a third patient were generated (table S1). CFS XMRV strains 1106 and 1178 each differed by 6 nt from

the reference prostate cancer strain XMRV VP62 (EF185282), and with the exception of 1 nt, the variant nucleotides mapped to different locations within the XMRV genome, suggesting independent

infections. In comparison, prostate cancer-derived XMRV strains VP35 and VP42 differed from VP62 by 13 and 10 nt, respectively. Thus, the complete XMRV genomes in these CFS patients

were >99% identical in sequence to those detected in patients with prostate cancer. To exclude the possibility that we were detecting a murine leukemia virus (MLV) laboratory contaminant, we determined the phylogenetic relationship among endogenous (non-ecotropic) MLV sequences, XMRV sequences, and sequences from CFS patients 1104, 1106, and 1178 (fig. S2). XMRV sequences from the CFS patients clustered with the XMRV sequences from prostate cancer cases and formed a branch distinct from non-ecotropic MLVs common in inbred mouse strains. Thus, the virus detected in the CFS patients' blood samples is unlikely to be a contaminant.

To determine whether XMRV proteins were expressed in PBMCs from CFS patients, we developed intracellular flow cytometry (IFC) and Western blot assays, using antibodies (Abs) with novel viral specificities. These antibodies included, among others, (i) rat monoclonal antibody (mAb) to the spleen focus-forming virus (SFFV) envelope (Env), which reacts with all polytropic and xenotropic MLVs (7); (ii) goat antisera to whole mouse NZB xenotropic MLV; and (iii) a rat mAb to MLV p30 Gag (8). All of these Abs detected the human VP62 XMRV strain grown in human Raji, LNCaP, and Sup-T1 cells (fig. S3) (5). IFC of activated lymphocytes (6, 9) revealed that 19 of 30 PBMC samples from CFS patients reacted with the mAb to MLV p30 Gag (Fig. 2A). The majority of the 19 positive samples also reacted with antisera to other purified MLV proteins (fig. S4A). In contrast, 16 healthy control PBMC cultures tested negative (Fig. 2A and fig. S4A). These results were confirmed by Western blots (Fig. 2, B and C) (6) using Abs to SFFV Env, mouse xenotropic MLV, and MLV p30 Gag. Samples from five healthy donors exhibited no expression of XMRV proteins (Fig. 2C). The frequencies of CFS cases versus healthy controls that were positive and negative for XMRV sequences were used to calculate a Pearson  $\chi^2$  value of 154 (two-tailed  $P$  value of  $8.1 \times 10^{-35}$ ). These data yield an odds ratio of 54.1 (a 95% confidence interval of 23.8 to 122), suggesting a nonrandom association with XMRV and CFS patients.

To determine which types of lymphocytes in blood express XMRV, we isolated B and T cells from one patient's PBMCs (6). Using mAb to MLV p30 Gag and IFC, we found that both activated T and B cells were infected with XMRV (Fig. 2D and fig. S4A). Furthermore, using mAb to SFFV Env, we found that >95% of the cells in a B cell line developed from another patient were positive for XMRV Env (fig. S4B). XMRV protein expression in CFS patient-derived activated T and B cells grown for 42 days in culture was confirmed by Western blots (fig. S4C) using Abs to SFFV Env and xenotropic MLV.

We next investigated whether the viral proteins detected in PBMCs from CFS patients represent infectious XMRV. Activated lymphocytes (6) were cocultured with LNCaP, a prostate cancer cell line with defects in both the JAK-STAT and RNase L pathways (10, 11) that was previ-

ously shown to be permissive for XMRV infection (12). After coculture with activated PBMCs from CFS patients, LNCaP cells expressed XMRV Env and multiple XMRV Gag proteins when analyzed by Western blot (Fig. 3A) and IFC (fig. S5A). Transmission electron microscopy (EM) of the infected LNCaP cells (Fig. 3B), as well as virus preparations from these cells (Fig. 3C), revealed 90- to 100-nm-diameter budding particles consistent with a gamma (type C) retrovirus (13).

We also found that XMRV could be transmitted from CFS patient plasma to LNCaP cells when we applied a virus centrifugation protocol to enhance infectivity (6, 14, 15). Both XMRV gp70 Env and p30 Gag were abundantly expressed in LNCaP cells incubated with plasma samples from 10 of 12 CFS patients, whereas no viral protein expression was detected in LNCaP cells incubated with plasma samples from 12 healthy donors (Fig. 4A). Likewise, LNCaP cells incubated with patient plasma tested positive for XMRV p30 Gag in IFC assays (fig. S5B). We also observed cell-free transmission of XMRV from the PBMCs of CFS patients to the T cell line SupT1 (Fig. 4B) and both primary and secondary transmission of cell-free virus from the activated T cells of CFS patients to normal T cell cultures (Fig. 4C). Together, these results suggest that both cell-associated and cell-free transmission of CFS-associated XMRV are possible.

We next investigated whether XMRV stimulates an immune response in CFS patients. For this purpose, we developed a flow cytometry assay that allowed us to detect Abs to XMRV Env by exploiting its close homology to SFFV Env (16). Plasma from 9 out of 18 CFS patients infected with XMRV reacted with a mouse B cell line expressing recombinant SFFV Env (BaF3ER-SFFV-Env) but not to SFFV Env negative control cells (BaF3ER), analogous to the binding of the SFFV Env mAb to these cells (Fig. 4D and S6A). In contrast, plasma from seven healthy donors did not react (Fig. 4D and fig. S6A). Furthermore, all nine positive plasma samples from CFS patients but none of the plasma samples from healthy donors blocked the binding of the SFFV Env mAb to SFFV Env on the cell surface (fig. S6B). These results are consistent with the hypothesis that CFS patients mount a specific immune response to XMRV.

Neurological maladies and immune dysfunction with inflammatory cytokine and chemokine up-regulation are some of the most commonly reported features associated with CFS. Several retroviruses, including the MLVs and the primate retroviruses HIV and HTLV-1, are associated with neurological diseases as well as cancer (17). Studies of retrovirus-induced neurodegeneration in rodent models have indicated that vascular and inflammatory changes mediated by cytokines and chemokines precede the neurological pathology (18, 19). The presence of infectious XMRV in lymphocytes may account for some of these observations of altered immune responsiveness and neurological function in CFS patients.

We have discovered a highly significant association between the XMRV retrovirus and CFS. This observation raises several important questions. Is XMRV infection a causal factor in the pathogenesis of CFS or a passenger virus in the immunosuppressed CFS patient population? What is the relationship between XMRV infection status and the presence or absence of other viruses that are often associated with CFS (e.g., herpesviruses)? Conceivably these viruses could be cofactors in pathogenesis, as is the case for HIV-mediated disease, in which co-infecting pathogens play an important role (20). Patients with CFS have an elevated incidence of cancer (21). Does XMRV infection alter the risk of cancer development in CFS? As noted above, XMRV has been detected in prostate tumors from patients expressing a specific genetic variant of the *RNASEL* gene (5). In contrast, in our study of this CFS cohort, we found that XMRV infection status does not correlate with the *RNASEL* genotype (6) (table S2).

Finally, it is worth noting that 3.7% of the healthy donors in our study tested positive for XMRV sequences. This suggests that several million Americans may be infected with a retrovirus of as yet unknown pathogenic potential.

References and Notes

1. L. D. Devaran, J. R. Keri, *J. Clin. Virol.* 37, 139 (2006).
2. T. L. Whiteside, D. Frberg, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 105, 275 (1998).
3. R. J. Suhadolnik et al., *J. Interferon Cytokine Res.* 37, 377 (1997).
4. G. Casey et al., *Nat. Genet.* 32, 581 (2002).
5. A. Urisman et al., *PLoS Pathog.* 2, e25 (2006).
6. Materials and methods are available as supporting material on Science Online.
7. R. Wolff, S. Koller, J. Rusconi, *Virology* 43, 472 (1982).
8. B. Chesbro et al., *Virology* 127, 134 (1983).
9. K. A. Smith, F. W. Rusconi, *Adv. Immunol.* 33, 137 (1981).
10. G. Dunn, K. Sheehan, L. Old, R. Schreiber, *Cancer Res.* 65, 3447 (2005).
11. Y. Xiang et al., *Cancer Res.* 63, 6795 (2003).
12. B. Dong et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 104, 1655 (2007).
13. B. J. Poiesz et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 77, 742 (1980).
14. G. R. Pietroni, G. B. Harnett, M. R. Bucens, *J. Virol. Methods* 24, 85 (1989).
15. S. M. Yoo et al., *J. Virol. Methods* 154, 160 (2008).
16. L. Wolff, E. Scolnick, S. Rusconi, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 80, 4718 (1983).
17. C. Power, *Trends Neurosci.* 24, 162 (2001).
18. X. Li, C. Hanson, J. Cmarik, S. Rusconi, *J. Virol.* 83, 4912 (2009).
19. K. E. Peterson, B. Chesbro, *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 303, 67 (2006).
20. A. Lisso, C. Vanpouille, L. Margolis, *Curr. HIV/AIDS Rep.* 6, 5 (2009).
21. P. H. Levine et al., *Cancer Res.* 52, 5516s (1992).
22. We thank D. Borofente, Y. Huang, C. Hanson, and J. Troler for technical assistance; K. Nagahima for EM; and C. Ware and K. Hunter for discussions. Funded by the Whittemore Peterson Institute and the Whittemore Family Foundation; the National Cancer Institute (NCI); NIH (under contract HHSN261200800010E); and grants to R.H.S. from NCI/NIH (CA04943), the U.S. DoD Prostate Cancer Research Program (W81XWH-07-1-338), the V Foundation for Cancer Research, the Charlotte Geyer Foundation, and Mal and Lea Bank. The content of this publication does not reflect the views or policies of the U.S. DHHS, nor does mention of trade names, commercial products, or organizations imply endorsement by the U.S. government.

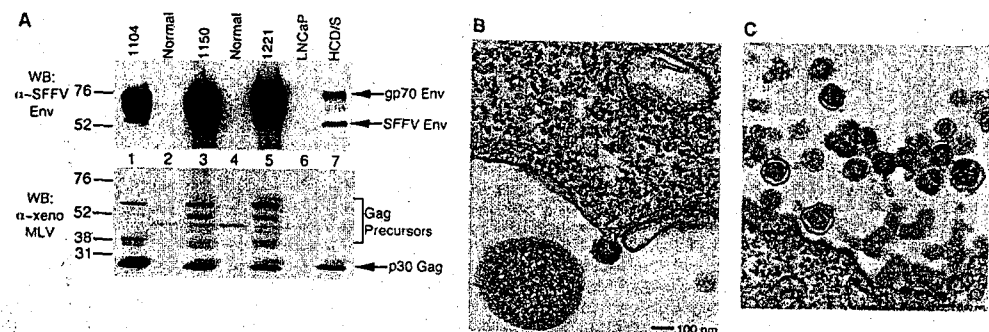


Fig. 3. Infectious XMRV in PBMCs from CFS patients. (A) Lysates of LNCaP cells cocultured with PBMCs from CFS patients (lanes 1, 3, and 5) or healthy donors (lanes 2 and 4) were analyzed by Western blots with rat mAb to SFFV Env (top panel) or goat antiserum to xenotropic MLV (bottom panel). Lane 6, uninfected LNCaP; lane 7, SFFV-infected HCD-57 cells. MW markers in kilodaltons are at left. (B) Transmission electron micrograph of a budding viral particle from LNCaP cells infected by incubation with an activated T cell culture from a CFS patient. (C) Transmission electron micrograph of virus particles released by infected LNCaP cells.

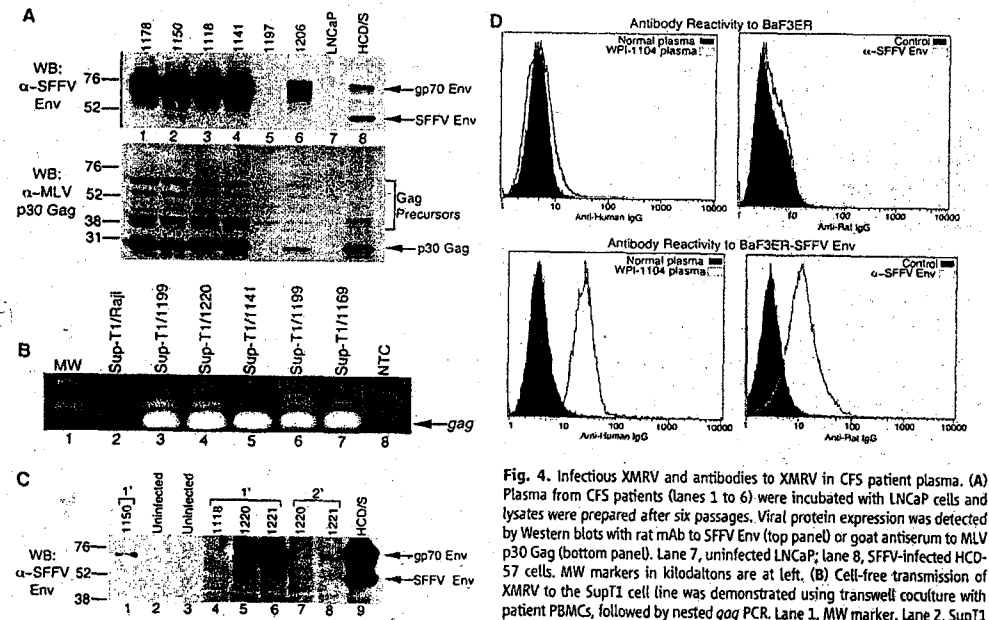


Fig. 4. Infectious XMRV and antibodies to XMRV in CFS patient plasma. (A) Plasma from CFS patients (lanes 1 to 6) were incubated with LNCaP cells and lysates were prepared after six passages. Viral protein expression was detected by Western blots with rat mAb to SFFV Env (top panel) or goat antiserum to MLV p30 Gag (bottom panel). Lane 7, uninfected LNCaP; lane 8, SFFV-infected HCD-57 cells. MW markers in kilodaltons are at left. (B) Cell-free transmission of XMRV to the SupT1 cell line was demonstrated using transwell coculture with patient PBMCs, followed by nested gag PCR. Lane 1, MW marker. Lane 2, SupT1 cocultured with Raji. Lanes 3 to 7, SupT1 cocultured with CFS patient PBMCs. Lane 8, no template control (NTC). (C) Normal T cells were exposed to cell-free supernatants obtained from T cells (lanes 1, 5, and 6) or B cells (lane 4) from CFS patients. Lanes 7 and 8 are secondary infections of normal activated T cells. Initially, uninfected primary T cells were exposed to supernatants from PBMCs of patients WPI-1220 (lane 7) and WPI-1221 (lane 8). Lanes 2 and 3, uninfected T cells; lane 9, SFFV-infected HCD-57 cells. Viral protein expression was detected by Western blot with a rat mAb to SFFV Env. MW markers in kilodaltons are at left. (D) Plasma samples from a CFS patient or from a healthy control as well as SFFV Env mAb or control were reacted with BaF3ER cells (top) or BaF3ER cells expressing recombinant SFFV Env (bottom) and analyzed by flow cytometry. IgG, immunoglobulin G.

P.H.S. may receive royalty payments in the future from Abbott Laboratories. Grant accession numbers are as follows: WPI-133, G0483308, WPI-118, G0483309, WPI-119, G0483310, WPI-118, G0497451, WPI-110, G0497452, WPI-110, G0497453. Note: In proof, V.L.C. is operations manager of Viral Immune Pathologies Laboratory, which is in negotiations with the Whittemore Peterson Institute to offer a diagnostic test to XMMV.

Supporting Online Material  
www.sciencemag.org/content/311/5925/589  
Materials and Methods  
Figs. S1 to S5

# Complete Reconstitution of a Highly Reducing Iterative Polyketide Synthase

Suzanne M. Ma,<sup>1</sup> Jesse W.-H. Liu,<sup>2</sup> Jin W. Choi,<sup>3</sup> Hui Zhou,<sup>1</sup> K. K. Michael Lee,<sup>3</sup> Vijayalakshmi A. Moorithi,<sup>2</sup> Xinhai Xie,<sup>2</sup> James T. Kealey,<sup>2</sup> Nancy A. Da Silva,<sup>3</sup> John C. Vederas,<sup>2</sup> Yi Tang<sup>1\*</sup>

Highly reducing iterative polyketide synthases are large, multifunctional enzymes that make important metabolites in fungi, such as lovastatin, a cholesterol-lowering drug from *Aspergillus terreus*. We report efficient expression of the lovastatin nonaketide synthase (LovB) from an engineered strain of *Saccharomyces cerevisiae*, as well as complete reconstitution of its catalytic action in the presence and absence of cofactors (the reduced form of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate and 5-pyridylmethionine) and its partner enzyme, the enoyl reductase LovC. Our results demonstrate that LovB retains correct intermediates until completion of synthesis of dihydrolovastatin, but of folds incorrectly processed compounds as pyrones or hydrolytic products. Experiments replacing LovC with analogous MlcG from compactin biosynthesis demonstrate a gate-keeping function for this partner enzyme. This study represents a key step in the understanding of the functions and structures of this family of enzymes.

Nature uses an amazing array of enzymes to make natural products (1). Among these metabolites, polyketides represent a class of over 7000 known structures of which more than 20 are commercial drugs (2). Among the most interesting but least understood enzymes making these compounds are the highly reducing iterative polyketide synthases (IPKSs) found in filamentous fungi (3). In contrast to the well-studied bacterial type I PKSS that operate in an assembly line fashion (4), HR-IPKSs are megasynthases that function iteratively by using a set of catalytic domains repeatedly in different combinations to produce structurally diverse fungal metabolites (5). One such metabolite is lovastatin, a cholesterol-lowering drug from *Aspergillus terreus* (6). This compound is a precursor to simvastatin (Zocor, Merck, Whitehouse Station, NJ), a semi-synthetic drug that had annual sales of more than \$4 billion before loss of patent protection in 2006 (7).

Biosynthesis of lovastatin proceeds via dihydroxymethyl-L (acid form), lactone form (2), a product made by the HR-IPKS lovastatin nonaketide synthase (LovB), with the assistance of a separate enoyl reductase, LovC (8) (Fig. 1). LovB is a 33.5-kD protein that contains single copies of

with the Whittemore Peterson Institute to offer a diagnostic test to XMMV.

Tables S1 and S2  
References  
7 May 2009; accepted 31 August 2009  
Published online 8 October 2009  
10.1126/science.1179052  
Include this information when citing this paper.

REPORTS

別紙様式第 2-1  
番号 17

sonal copy of the *Aspergillus nidulans* phosphopantetheinyl transferase gene *mgf1* (2), was the expression host. A C-terminal hexahistidine-tagged LovB was placed under the control of the *S. cerevisiae ADHI2* promoter (13, 14) on an episomal plasmid (YEpLovB-6His). Abundant amounts of the intact LovB could be purified from the soluble fraction to near homogeneity with a final yield of ~4.5 mg/L (fig. S1). We used mass analysis of tryptic digest fragments to verify the identity of the recombinant LovB. The ACP domain of LovB was determined to be nearly completely phosphopantetheinylated by using a point mutation assay with high-resolution quadrupole orthogonal acceleration–time-of-flight mass spectrometry (fig. S2). To ascertain activity of the resulting LovB and to examine the influence of cofactors, malonyl-CoA alone was first added to the purified enzyme in buffer. Whole-cell feeding studies of doubly [<sup>14</sup>C, <sup>3</sup>H]-labeled acetate to cultures of *A. terreus* showed that all three acetate hydrogens were incorporated into the acetate-derived starter units for both the nonaketide and diketide moieties in lovastatin (15). The purified LovB can use malonyl-CoA for both chain priming and chain elongation, leading malonate with decarboxylation to make the acetyl starter unit.

Although LovB is able to prime with and elongate the chain by two further condensations with malonyl-CoA, in the absence of the reduced form of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH), no ketoreduction occurs. The dominant product is lactone 3 (Fig. 2A, trace 1), which forms by enolization and cyclization with off-loading of the unreduced triketide. Addition of NADPH to this system enables function of the KR domain. In this and subsequent experiments, the malonyl-CoA could be conveniently synthesized in situ by malonyl-CoA synthase (MalB) from *Rhizobium trifolii* using free malonate and CoA (16). With KR embedded, LovB makes pentaketide-, and heptaketide pyrones 4 to 6, as well as lactones 7 and 8 (Fig. 2A, trace 2). The structures were confirmed by chemical synthesis of authentic standards, except for heptaketide 6, which proved very unstable. However, the mass increase of 26 atomic mass units for 6 and its red shift in the ultraviolet spectrum when compared to 5 are consistent with its proposed heptaketide pyrone structure (table S3). Compounds 7 and 8 result from thioester hydrolysis of pent- and heptaketides stalling on the ACP at the β-keto stage. The resulting β-keto acids spontaneously decarboxylate to afford 7 and 8. Formation of compounds 4 to 8 illustrates that deactivation in the normal programmed steps, namely the lack of methylation due to the absence of 5-pyridylmethionine

ketosynthase (KS), malonyl-coenzyme A (CoA) acyltransferase (MAT), dehydratase (DH), methyltransferase (MT), ketoreductase (KR), and acyl-carrier protein (ACP) domains, as well as a section that is homologous to the condensation (CON) domain found in nonhomologous peptide synthetases (NPRSs) (9). It also contains a domain that resembles an enoyl reductase (ER) but lacks that activity. LovB must catalyze ~35 reactions and use different permutations of varying domains after each of the eight chain-extension steps to yield the nonaketide, dihydroxymethyl-L (2). This enzyme also catalyzes a biological Diels-Alder reaction during the assembly process to form the decalin ring system (10). In vitro studies of LovB (11) have been hampered by an inability to obtain sufficient amounts of the functional, purified megasynthase from either *A. terreus* or heterologous *Aspergillus* hosts. As a result, the programming that governs metabolite assembly by LovB or other HR-IPKSs is not understood. Key aspects that remain to be elucidated include (i) the catalytic and structural roles of each domain in the megasynthase, (ii) substrate specificities of the catalytic domains and their tolerance to perturbation in megasynthase functions, and (iii) factors governing the choice of different combinations of domains during each iteration of catalysis. To initiate such studies, we engineered an expression system in yeast to produce large amounts of LovB and examined the influence of cofactors and the ER partner (E<sub>2</sub>, LovC) on product formation.

The engineered *Saccharomyces cerevisiae* strain BJ1564-HyPGA, which contains a chromo-

Department of Chemical and Biomolecular Engineering, University of California, Los Angeles, CA 90095, USA. <sup>2</sup>Department of Chemistry, University of Alberta, Edmonton, Alberta, T6G 2G6, Canada. <sup>3</sup>Department of Chemical Engineering and Materials Science, University of California, Irvine, CA 92697, USA. <sup>4</sup>Amgen Biotechnology, 5885 Hollis Street, Suite 100, Emeryville, CA 94608, USA.

To whom correspondence should be addressed. E-mail: john.vederas@ucla.edu (V.L.); yitang@ucla.edu (Y.T.).

589

www.sciencemag.org SCIENCE VOL 326 23 OCTOBER 2009

83

医薬品  
医薬部外品  
化粧品  
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	厚生労働省処理欄
①②ポリエチレングリコール処理抗破傷風人免疫グロブリン ③乾燥抗破傷風人免疫グロブリン	研究報告 の公表状 況	2009年10月26日	該当なし	代表としてデタノブリン III 静注 250 単位の記載を示す。
販売名 (企業名)	① デタノブリン III 静注 250 単位 (ベネシス) ② デタノブリン III 静注 1500 単位 (ベネシス) ③ デタノブリン筋注用 250 単位 (ベネシス)	第 57 回日本ウイルス学会学術集会 (抄録 No. IP074)	公表国 日本	2. 重要な基本的注意 (1) 本剤の原材料となる血液については、HBs 抗原、抗 HCV 抗体、抗 HIV-1 抗体、抗 HIV-2 抗体陰性であることを確認している。更に、プールした試験血漿については、HIV-1、HBV 及び HCV について核酸増幅検査 (NAT) を実施し、適合した血漿を本剤の製造に使用しているが、当該 NAT の検出限界以下のウイルスが混入している可能性が常に存在する。本剤は、以上の検査に適合した高力価の破傷風抗毒素を含有する血漿を原料として、Cohn の低温エタノール分画で得た画分からポリエチレングリコール 4000 処理、DEAE セファデックス処理等により抗破傷風人免疫グロブリンを濃縮・精製した製剤であり、ウイルス不活化・除去を目的として、製造工程において 60℃、10 時間の液状加熱処理及びウイルス除去膜による過処理を施しているが、投与に際しては、次の点に十分注意すること。
研究報告の概要	(目的) 日本で採血された血漿由来の静注用免疫グロブリン製剤 (IVIG) に Classical Swine Influenza A(H1N1)virus 及び Influenza A(H1N1)pdm virus に反応する抗体が含まれているかを調べ、ドナーが免疫を獲得している可能性について検討した。 (材料と方法) Classical Swine Influenza A(H1N1)virus は「A/Swine/Hokkaido/2/1981」を使用した。Influenza A(H1N1)pdm virus は大阪で分離したウイルスを用いた。IVIG は日本で採血された原料により 2008 年に製造されたロットを用いた。赤血球凝集抑制能 (HI 価) は、8HA のウイルス液に等量の希釈サンプルを加え、モルモット赤血球に対する完全凝集制御を示す最大希釈倍数で求めた。中和抗体価 (NT 活性) は 100FFU のウイルスに対して 50%以上の感染阻害を示す最大希釈倍数で求めた。 (結果) IVIG にブタ及び新型ウイルスに対する HI 及び NT 活性が認められ、その値はそれぞれ 8 倍、64 倍であった。 (考察) 日本で採血された血漿由来の IVIG にも HI 及び NT 活性が認められることから、日本においてもある程度で Influenza A(H1N1)pdm virus に反応する抗体を保有しているドナーが存在すると推測された。			
報告企業の意見	日本では採血された血漿を原料として製造された静注用免疫グロブリン製剤 (IVIG) に新型インフルエンザウイルスに反応する抗体が含まれていたことについての報告である。 インフルエンザ A (H1N1) はオルソミクソウイルス科に属し、ヒリオンは球形で、直径 80~120nm の脂質エンベロープを有する比較的大きな RNA ウィルスである。万一、インフルエンザ A (H1N1) が原料血漿に混入したとしても BVD をモデルウィルスとしたウィルスバリエーション試験成績から、製造工程にて十分に不活化・除去されると考えられている。	今後の対応		

13

季節性インフルエンザウイルスに対するヒト免疫グロブリン製剤の抗体価

浦山 健<sup>1,2</sup>、橋本律子<sup>2</sup>、辻川宗男<sup>3</sup>、柚木幹弘<sup>1,2</sup>、萩原克郎<sup>4</sup>、高橋和郎<sup>4</sup>、奥野良信<sup>5</sup>、生田和良<sup>6</sup>、株式会社ベネッセ 研究開発部 大阪研究所<sup>1</sup>、大阪大学微生物学研究所 ウイルス免疫分野<sup>2</sup>、財団法人大阪大学微生物学研究所 細菌学研究所<sup>3</sup>、大阪府立公衆衛生研究所<sup>4</sup>、大阪府立大学歯学部<sup>5</sup>、徳島大学歯学部<sup>6</sup>

Ueyama.Taken@nink-pharma.co.jp

【目的と意義】

インフルエンザウイルスは流行季節に基いて接種株が決定され、国民に接種されている。このような管理をもつトナー製剤 (VIG) は、当然トナー製剤に用いる血液製剤製法 (HPI) を有する。しかしながら、本質的にトナー製剤に期待される機能は中和能 (NT) であるにも関わらず、VIGに期待される知見は少ない。また、VIGの製造時を起点とし、その前後の時期に分離されたウイルス株への感染反応性に関する知見も少ない。そこで私たちはVIGに含まれるインフルエンザウイルス抗体の特性を明らかにするために、製造時期及び地域 (米国と日本) の異なるVIG及び分離時期の異なるウイルス株を用いて、HPIとVIGの比較を行った。

【材料と方法】

製造時期 (1999-2008年) または、原料の採取場所 (米国又は日本) が異なる複数のVIGを用いて、各種インフルエンザウイルス株 (V) の中和能 (NT) に対するHPI値およびVIG値を測定した。HPI値は、8HAのウイルス液に等量の希釈サンプルを加え、モット赤血球に対する完全凝集抑制を示す最大希釈倍数で求めた。NT値は、100FFUのウイルスに対して50%以上の感染阻害を示す最大希釈倍数で求めた。

【結果と考察】

製造時以前に分離され、且つその後トナー製剤として採用されたウイルス株に対して、VIGは高い抗体価を示した。また、製造時以降新たに分離されたウイルス株に対しても交差反応性を示した。これらの結果からVIGは製造時期や採取場所に関わらず、様々な季節性インフルエンザウイルスに反応する抗体を含んでいると考えられた。今後はその分離時期、地域をまたがって反応する抗体の本質を明らかにする必要がある。

Classical Swine Influenza A (H1N1) virus 及び Influenza A (H1N1) pdm virus に対する静注用グロブリン製剤の抗体価

井手野祥次<sup>1</sup>、橋本律子<sup>2</sup>、トウチアツリ<sup>3</sup>、佐々木正大<sup>4</sup>、浦山 健<sup>1,2</sup>、柚木幹弘<sup>1,2</sup>、萩原克郎<sup>4</sup>、高橋和郎<sup>4</sup>、奥野良信<sup>5</sup>、生田和良<sup>6</sup>、株式会社ベネッセ 大阪研究所<sup>1</sup>、大阪大学微生物学研究所 ウイルス免疫分野<sup>2</sup>、財団法人大阪大学微生物学研究所 細菌学研究所<sup>3</sup>、大阪府立公衆衛生研究所<sup>4</sup>、大阪府立大学歯学部<sup>5</sup>、徳島大学歯学部<sup>6</sup>

Imano.Shouji@nank-pharma.co.jp

【目的と意義】

2009年4月に顕在化した新型インフルエンザの世界的流行は想定されていたより由来のH5N1とは異なり、アフリカ由来のA/H1N1であった。今回発生したInfluenza A (H1N1) pdmは古典型インフルエンザウイルス (Swinfluenza A (H1N1) virus) とは抗原性が異なり、従来の季節性インフルエンザウイルスとは異なる。しかしながら、高齢者はこの新型インフルエンザに罹患しているという報告もあり、一部のトナーは免疫を獲得していることが考えられた。そこで、私たちは日本産採取された血液を原料として製造された静注用グロブリン製剤 (VIG) にClassical Swine Influenza A (H1N1) virus 及び Influenza A (H1N1) pdm virus に反応する抗体が含まれているかを調べ、トナーが免疫を獲得している可能性について検討を行った。

【材料と方法】

Classical Swine Influenza A (H1N1) virus は (A/ Swine/ Hokkaido/ 02/ 1981) を使用した。Influenza A (H1N1) pdm virus は大阪府で分離されたウイルスを用いた。VIGは日本で採血された原料に基づき2008年に製造されたロットを用いた。HPI値は、8HAのウイルス液に等量の希釈サンプルを加え、モット赤血球に対する完全凝集抑制を示す最大希釈倍数で求めた。中和抗体価 (NT) は100FFUのウイルスに対して50%以上の感染阻害を示す最大希釈倍数で求めた。

【結果】

VIGはアフリカ及び新型インフルエンザに対するHPI及びNT活性が認められ、その値はそれぞれ48倍、64倍であった。

【考察】

米国における保存血液のNovel Influenza A (H1N1) virus に対する抗体保有率に関する報告が2009年5月22日のMMWRに掲載された。日本で採血された血液由来のVIGにHPI及びNT活性が認められることから、日本においてもある程度の率でInfluenza A (H1N1) pdm virus に反応する抗体を保有しているトナーが存在すると推測された。

別紙様式第2-1 番号 13

医薬品 医薬部外品 研究報告 調査報告書 化粧品

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	厚生労働省処理欄
		2009年11月16日	該当なし	
一般の名称	人ハプトグロビン	研究報告の公表状況	FDA/Vaccines, Blood&Biologicals/2009/11/13	公表国 アメリカ
販売名 (企業名)	ハプトグロビン静注 2000単位「ベネッセ」 (ベネッセ)			
研究報告の概要	<p>米国FDAによる2009年11月付の業界向けガイダンス (案) 「パンデミック (H1N1) 2009インフルエンザウイルスへの対応における血液供給の保存、血液製剤の安全性、血液ドナーの適合性に関する推奨」が出された。示された推奨の内容は以下のとおりである。</p> <p>A. バックアップ要員の訓練 パンデミック (H1N1) 2009インフルエンザウイルスにより引き起こされる疾患の範囲は未知であるので、要員不足を予期し、適正なバックアップ要員を持つことを推奨する。更に、最重要な機能については複数のバックアップ要員を訓練すべきである。バックアップ要員は継続する訓練プログラムで訓練すべきである。</p> <p>B. 血液ドナー適合性、ドナーの延期そして製剤管理 一般的にドナーの医療歴は採血時に入手される。しかしながら、21 CFR 640.3 (a) 及び 640.63 (a) の下では全血または原料血漿の供給源としてのドナーの適格性は採血日に確立されなければならない。これらの規則は、明確に採血日を定義していない。時々、採血前にドナーに示された質問に対する返答は血液事業者による再調査により不完全であることが発見される。採血から24時間以内に、ドナー歴問診票に対するドナーの返答を明確にするあるいは省略された質問に対する返答を入手する必要がある。パンデミック (H1N1) 2009ウイルスに感染したまたは感染した疑いのあるドナーは、解熱剤の投薬なしで熱が下がり、それ以外の症状もなくしてから、少なくとも24時間は採血を延期しなければならない。献血後48時間以内にパンデミック (H1N1) 2009インフルエンザあるいはインフルエンザ様疾患の可能性のあるドナーについて情報を入手した場合、メディカルディレクターは安全性を評価しなければならない。</p> <p>C. 承認された申請に対する変更 認定血液事業者としての承認済みの申請について、以下の変更申請を提出してもよい。その試験所がFDAに登録され、ドナー試験を実施しているならば、その外部試験所を使用すること、等。</p>			
報告企業の意見	<p>パンデミック (H1N1) 2009 インフルエンザウイルスへの対応における血液供給の保存、血液製剤の安全性、血液ドナーの適合性に関する業界向けガイダンス (案) である。インフルエンザ A (H1N1) はオルソミクソウイルス科に属し、ピリオンは球形で、直径 80~120nm の脂質エンベロープを有する比較的大きな RNA ウイルスである。万一、インフルエンザ A (H1N1) が原料血漿に混入したとしても BVD をモデルウイルスとしたウイルスバリデーション試験成績から、製造工程にて十分に不活化・除去されると考えている。</p>			
今後の対応	<p>本報告は本剤の安全性に影響を与えないものと考えるので、特段の措置はとらない。</p>			

