



# Results: 13 samples were positive

Sample	CP	concentration			
		copies/reaction	copies/ul sample		
A		(-)	(-)	BEBOV	-3
B	39.4	6.93E+01	3.47E+02	CEBOV	-3
C		(-)	(-)	CCHFV	
D	28.42	8.69E+02	4.35E+03	REBOV	-1
E	28.7	7.09E+02	3.55E+03	MARV	-1
F	26.86	2.68E+03	1.34E+04	MARV	-3
G		(-)	(-)	SEBOV	-5
H		(-)	(-)	ZEBOV	-6
I	30.48	1.96E+02	9.80E+02	ZEBOV	-2
J	25.68	6.33E+03	3.17E+04	SEBOV	-1
K	19.48	5.67E+05	2.84E+06	BEBOV	-1
L	19.72	4.76E+05	2.38E+06	CEBOV	-1
M	28.61	7.53E+02	3.77E+03	MARV	-2
N		(-)	(-)	CEBOV	-4
O	[23.96]	[2.2e4]	[1.1e5]	ZEBOV	-4
P		(-)	(-)	SEBOV	-3
Q	32.64	4.23E+01	2.12E+02	REBOV	-2
R		(-)	(-)	RVFV	
S	27.08	2.30E+03	1.15E+04	SEBOV	-2
T	33.39	2.50E+01	1.25E+02	BEBOV	-2

## Summary

Sample	CP	concentration copies/reactio	Conventional			Answers virus	Answers dilution
			1st PCR	Nested PCR	Reston specific PCR		
A		(-)	(-)	EBO		BEBOV	-3
B	39.4	6.93E+01	(-)	EBO		CEBOV	-3
C		(-)	(-)	MBG		CCHFV	
D	28.42	8.69E+02	Posi	Reston	Posi	REBOV	-1
E	28.7	7.09E+02	Posi	MBG		MARV	-1
F	26.86	2.68E+03	(-)	MBG		MARV	-3
G		(-)	(-)	(-)		SEBOV	-5
H		(-)	(-)	(-)		ZEBOV	-6
I	30.48	1.96E+02	(-)	EBO		ZEBOV	-2
J	25.68	6.33E+03	Posi	EBO		SEBOV	-1
K	19.48	5.67E+05	Posi	EBO		BEBOV	-1
L	19.72	4.76E+05	Posi	EBO		CEBOV	-1
M	28.61	7.53E+02	(-)	MBG		MARV	-2
N		(-)	(-)	EBO		CEBOV	-4
O	[23.96]	[2.2e4]	(-)	EBO		ZEBOV	-4
P		(-)	(-)	EBO		SEBOV	-3
Q	32.64	4.23E+01	(-)	Reston	Posi	REBOV	-2
R		(-)	(-)	(-)		RVFV	
S	27.08	2.30E+03	Posi	EBO		SEBOV	-2
T	33.39	2.50E+01	(-)	(-)		BEBOV	-2



—ウイルス性出血熱—世界の現状と我が国の  
臨床的対応を考える



## 感染研におけるウイルス性出血熱患者 発生に備えた検査診断対応

国立感染症研究所  
ウイルス第一部第一室  
森川茂

平成24年3月10日



### 国立感染症研究所 ウイルス第一部第一室

1. ウイルス性出血熱(エボラ出血熱、マールブルグ病、ラッサ熱、クリミア  
コンゴ出血熱、南米出血熱等)及び天然痘の実験室診断法の開発及び  
ウイルス学的研究
2. 重篤な新興再興ウイルス感染症の実験室診断法の開発及びウイルス  
学的研究
3. ポックスウイルスのレファレンス業務、痘瘡ワクチンの国家検定と品質  
管理に関する研究
4. 国際的連携等
  - ✓ 世界健康安全保障グループラボラトリーネットワーク(Global Health  
Security Action Group Laboratory Network)
  - ✓ 国際高度安全実験室ネットワーク(International High Security  
Laboratory Network)
  - ✓ WHO Advisory Committee on Variola Virus Research



## Virus hemorrhagic fever

- Ebola hemorrhagic fever (HF)
- Marburg HF
- Lassa fever
- South American HF
- Crimean Congo HF
- Variola (smallpox)
- その他: HFRS, Rift Valley Fever, .....

### エボラ出血熱の流行

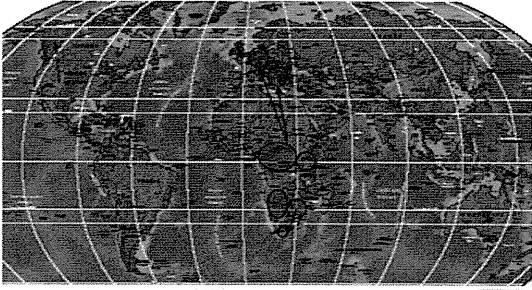


Year	Country	Virus species*	Cases	Deaths	Case fatality(%)
1976	Sudan	Sudan	284	151	53
1976	Zaire (DRC)	Zaire	318	280	88
1977	Zaire (DRC)	Zaire	1	1	100
1979	Sudan	Sudan	34	22	65
1994	Gabon	Zaire	52	31	60
1994	Cote d'Ivoir	Cote d'Ivoir	1	0	0
1995	Liberia	Cote d'Ivoir	1	0	0
1995	DRC	Zaire	315	250	79
1996	Gabon	Zaire	37	21	57
1996 - 1997	Gabon	Zaire	60	45	75
1996	South Africa	Zaire	1**	1	100
2000 - 2001	Uganda	Sudan	425	224	53
2001 - 2002	Gabon	Zaire	65	53	82
2001 - 2002	DRC	Zaire	59	44	75
2002 - 2003	DRC	Zaire	143	128	90
2003	DRC	Zaire	35	29	83
2004	Sudan	Sudan	17	7	41
2004	Sudan	Sudan	20	5	25
2005	DRC	Zaire	12	9	75
2007	DRC	Zaire	249	183	73
2007 - 2008	Uganda	Bundibugyo	149	37	25
2008-2009	DRC	Zaire	36 ?	12 ?	33
Total			2314	1533	

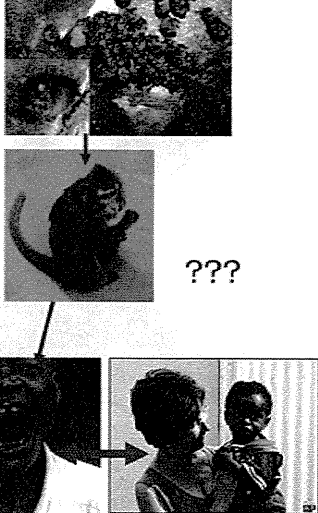
エボラウイルスには、現在5種 ( Zaire, Sudan, Bundibugyo, Ivory coast (Cote d'Ivoir), Reston ) のウイルスが同定されている。

# Marburg HF

(A) 分布



(B) 感染経路



NIID  
NATIONAL INSTITUTE OF  
INFECTIOUS DISEASES

# 消化管出血

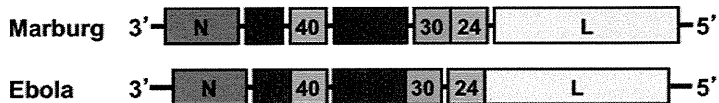
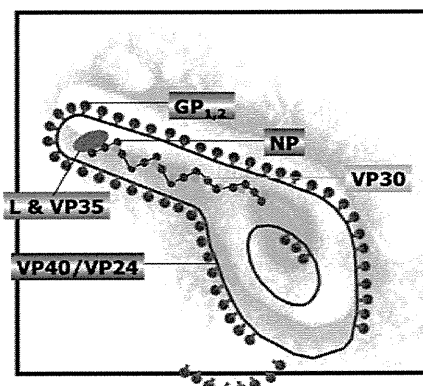
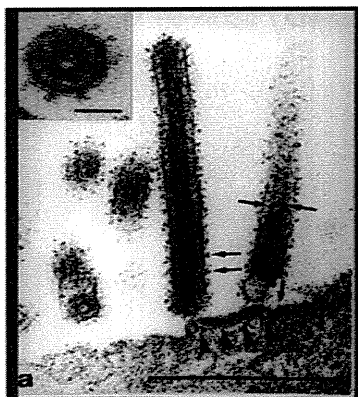
## 血性嘔吐・血性下痢



NIID  
NATIONAL INSTITUTE OF  
INFECTIOUS DISEASES



Filoviridae – Ebola, Marburg virus

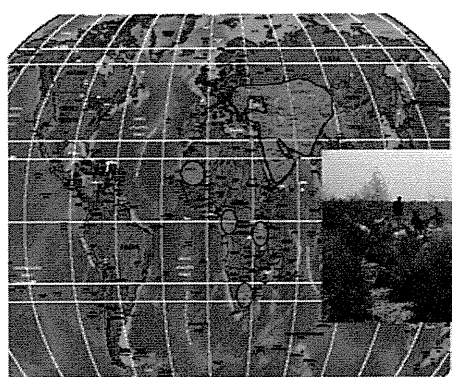


Crimean Congo HF

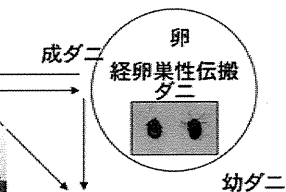


(A) 分布

(B) 感染経路

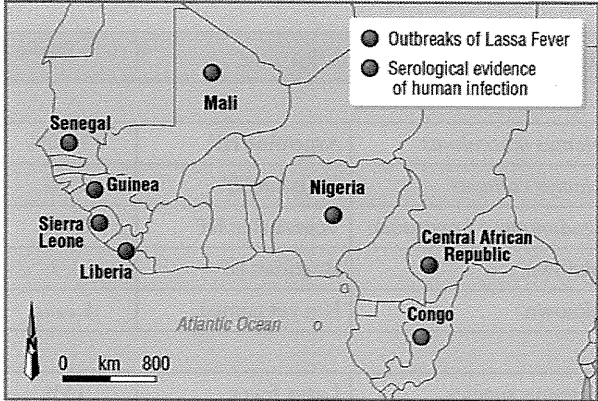


【ダニ-動物間サイクル】 【ダニ-ダニ間サイクル】

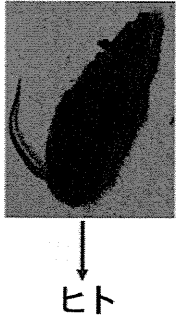


## Lassa Fever

(A) 分布



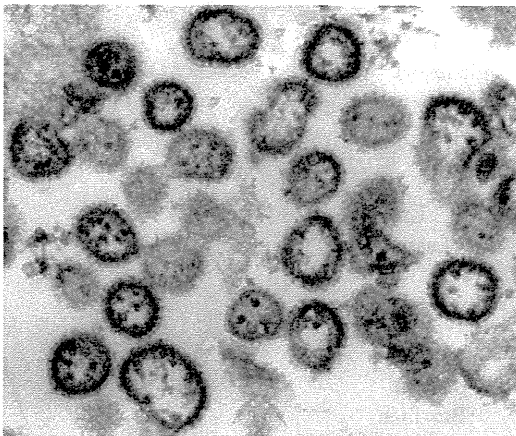
(B) 感染経路



300,000 to 500,000 cases of Lassa fever and 5,000 deaths occur annually in West Africa

(Richmond, BMJ 2003)

## Arenavirus



砂状 (arenosos)

NIID  
NATIONAL INSTITUTE OF INFECTIOUS DISEASES

アレナウイルス科:

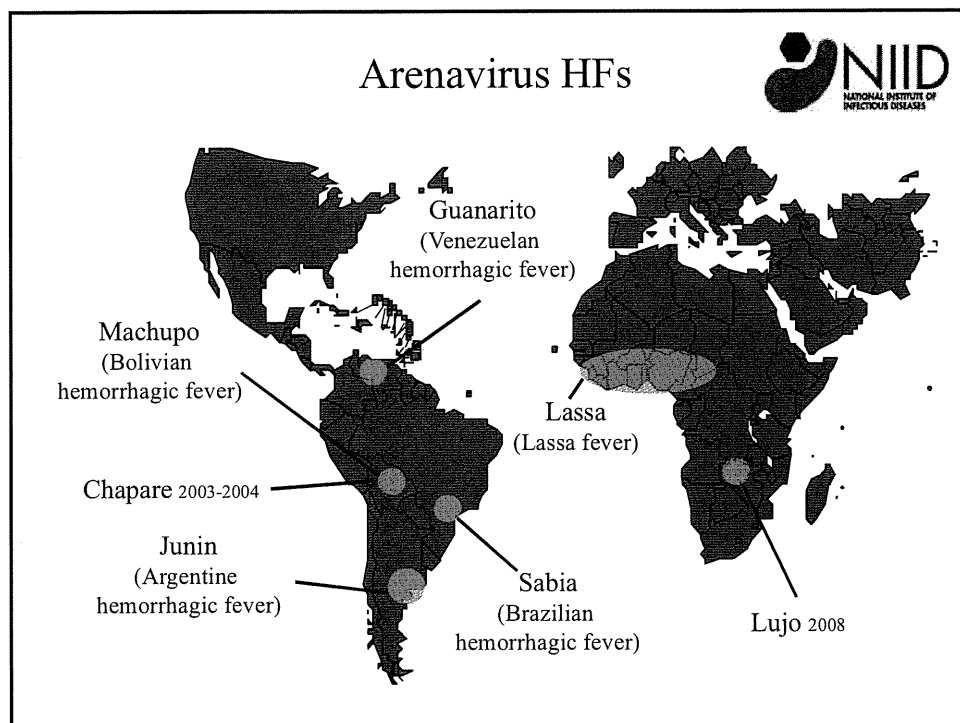
- Old world arena virus group
  - Lassa virus
  - Lujo virus
  - Mopeia virus
  - LCMV
- New world arena virus group
  - Junin virus
  - Machupo virus
  - Guanarito virus
  - Sabia virus
  - Chapare virus
  - etc




## Infectious diseases caused by Arenaviruses



Virus	Host in nature	Disease	Case Fatality
<b>New world arenavirus</b>			
Junin (JUNV)	<i>Calomys musculus</i>	Argentine HF	15-30%
Machupo (MACV)	<i>Calomys callosus</i>	Bolivian HF	25%
Guanarito (GTOV)	<i>Zygodontomys brevicauda</i>	Venezuelan HF	25%
Sabia (SABV)	Unknown	Brazilian HF	1/3
Chapare (CHPV)	Unknown	Not yet named	1 fatal case
<b>Old world arenavirus</b>			
Lassa (LASV)	<i>Mastomys</i> species	Lassa fever	15%
Lymphocytic choriomeningitis virus (LCMV)	<i>Mus domesticus</i> <i>Mus musculus</i>	Lymphocytic choriomeningitis	<1%
Lujo (LUJV)	Unknown	Not yet named	4/5





## Infectious Disease Control Law

(law concerning the prevention of infectious diseases and patients with infectious diseases)


1999 : enacted and became effective (repeal of the old communicable disease control law)

2003 : amended to cope with emerging diseases, to strengthen measures against infectious diseases of animal origin, and to revise the list of infectious diseases

2006 : amended to add national regulations for possession, use, and transfer of selected agents

2007: implemented

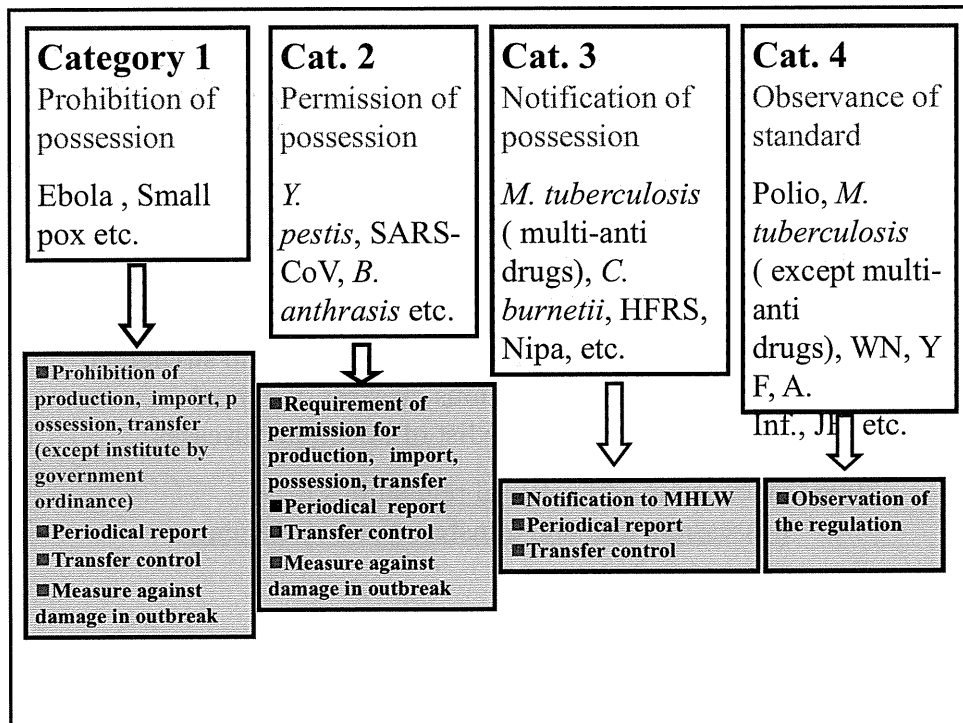
### 国が所持を把握 病原体等の適正管理について




【所持等の禁止】 《一種病原体等》	【所持等の許可】 《二種病原体等》	【所持等の届出】 《三種病原体等》	【基準の遵守】 《四種病原体等》
<ul style="list-style-type: none"> <li>○エボラウイルス</li> <li>○クリミア・コンゴ出血熱ウイルス</li> <li>○痘毒ウイルス</li> <li>○麻疹ウイルス</li> <li>○西米出血熱ウイルス</li> <li>○マルブルグウイルス</li> <li>○ラッサウイルス</li> </ul> <p style="text-align: right;">(以上6)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○SARSコロナウイルス</li> <li>○炭疽菌</li> <li>○野兔病菌</li> <li>○ペスト菌</li> <li>○ボツリヌス菌</li> <li>○ボツリヌス毒素</li> </ul> <p style="text-align: right;">(以上6)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○Q熱コクシエラ、○狂犬病ウイルス</li> <li>○多剤耐性結核菌</li> </ul> <p style="text-align: center;">「政令で定めるもの」</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○コクシオイトシス菌、○サル痘ウイルス、○腎臓慢性出血熱ウイルス、○西部ウマ脳炎ウイルス、○タニ媒介脳炎ウイルス、○オムスク出血熱ウイルス</li> <li>○キャサスル森林病ウイルス、○東部ウマ脳炎ウイルス、○ニバウイルス</li> <li>○日本紅斑熱リケッチャ</li> <li>○発しんチフスリケッチャ</li> <li>○ハンタウイルス肺症核糖ウイルス</li> <li>○Bウイルス、○鼻疽菌、○フルセラ菌</li> <li>○ベネズエラウマ脳炎ウイルス</li> <li>○ヘンドラウイルス</li> <li>○リフトバレーウイルス、○痘毒菌</li> <li>○ロッキー山紅斑熱リケッチャ</li> </ul> <p style="text-align: right;">(以上23)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○インフルエンザウイルス(H2N2、H5N1、H7N7)</li> <li>○黄熱ウイルス</li> <li>○クリプトスポリジウム</li> <li>○結核菌(多剤耐性結核菌を除く。)</li> <li>○コレラ菌</li> <li>○志賀毒素</li> <li>○赤痢菌属</li> <li>○チフス菌</li> <li>○腸管出血性大腸菌</li> <li>○バラチフスA菌</li> <li>○ポリオウイルス</li> </ul> <p style="text-align: center;">「政令で定めるもの」</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ウエストナイルウイルス</li> <li>○オウム病クラミジア</li> <li>○チングウイルス</li> <li>○日本脳炎ウイルス</li> </ul> <p style="text-align: right;">(以上16)</p>
<ul style="list-style-type: none"> <li>○国又は政令で定める法人のみ所持(施設を特定)、輸入、譲渡し及び譲受けが可能</li> <li>○運搬の届出(公安委)</li> <li>○発散行為の処罰</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○試験研究等の目的で厚生労働大臣の許可を受けた場合に、所持、輸入、譲渡し及び譲受けが可能</li> <li>○運搬の届出(公安委)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○病原体等の種類等について厚生労働大臣へ事後届出(7日以内)</li> <li>○運搬の届出(公安委)</li> </ul>	

- 病原体等に応じた施設基準、保管、使用、運搬、滅菌等の基準(厚生労働省令)の遵守
- 厚生労働大臣等による報告徴収、立入検査
- 厚生労働大臣による改善命令
- 改善命令違反等に対する罰則

14





**NIID**  
NATIONAL INSTITUTE OF INFECTIOUS DISEASES

**一種病原体 Category 1 (6 pathogens)**

Prohibition of production, import, possession, transfer (except institute by government ordinance)

All 6 pathogens are classified as level 4 agents

**Ebola viruses      Bundibugyo ebolavirus追加**

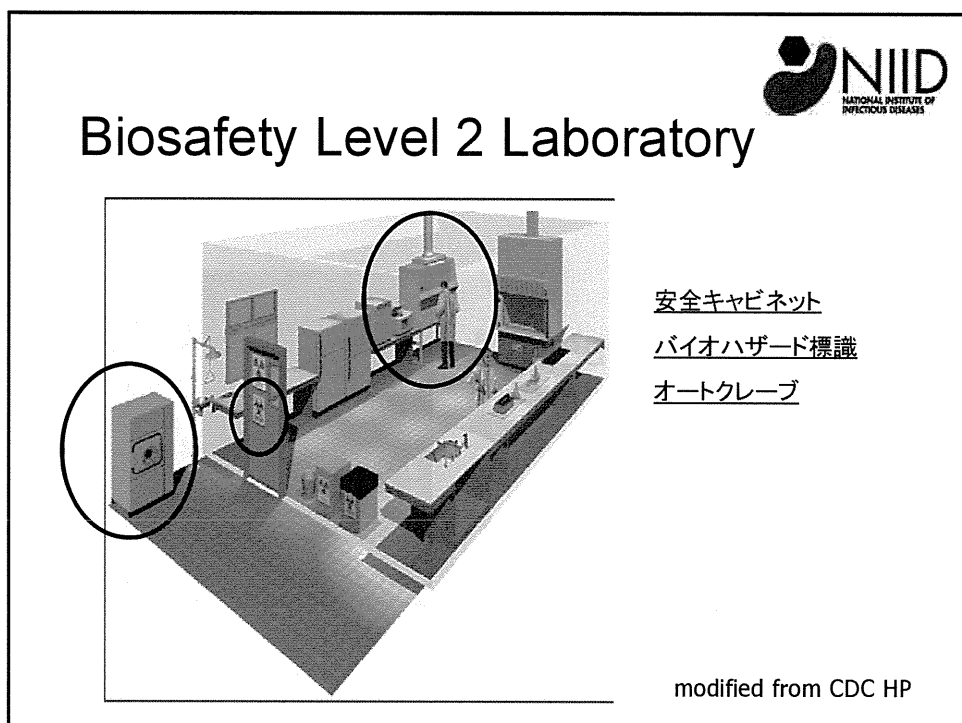
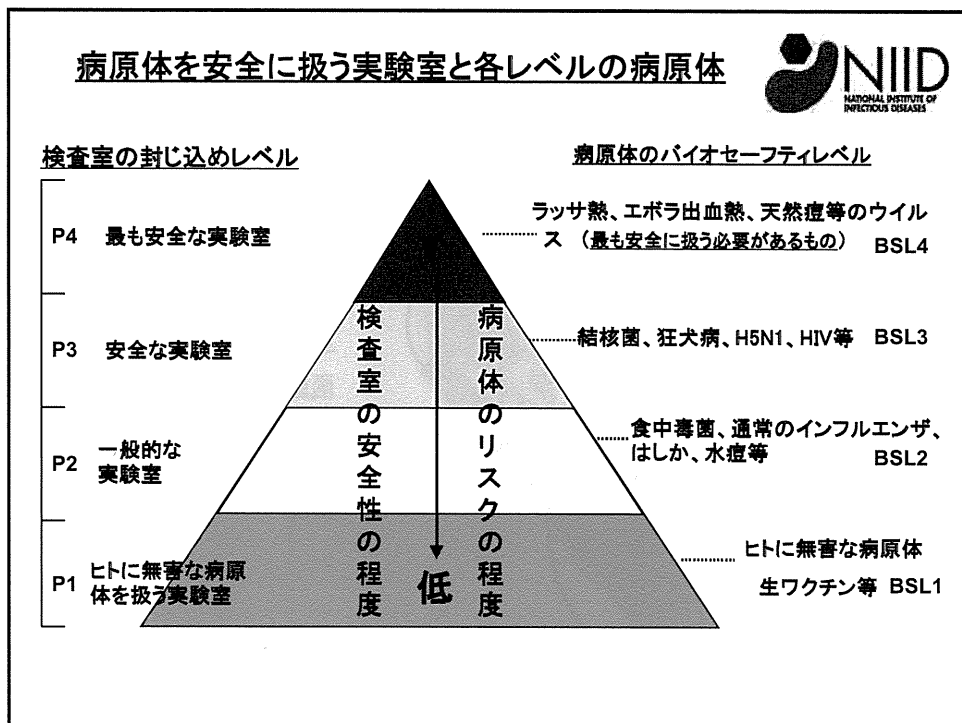
**Marburg virus**

**CCHF virus**

**Variola virus**

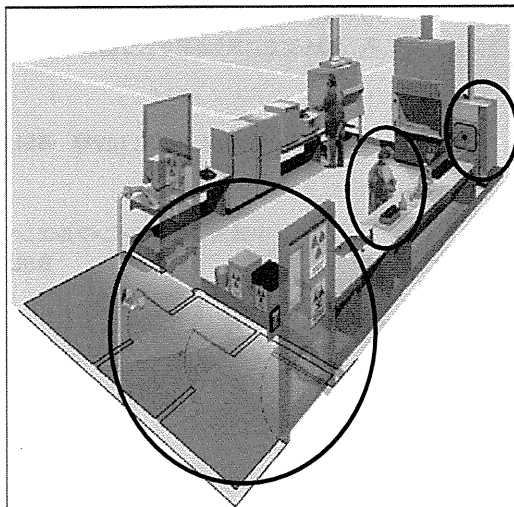
**Lassa virus      Lujo virus ? (検討中)**

**South American HF viruses  
(Guanarito, Junin, Macupo, Sabia)  
Chapare virus追加**





## Biosafety Level 3 Laboratory



安全キャビネット

バイオハザード標識

両面オートクレーブ

個人防御服

陰圧空調・HEPAフィルター

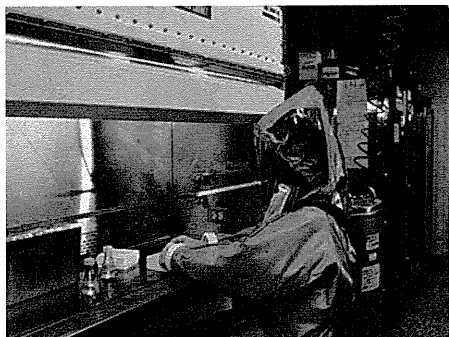
前室

modified from CDC HP



## Biosafety Level 4

- Suit laboratory
- Class I or Class II BSCs in combination with full-body, air supplied, positive pressure suit.



from CDC homepage

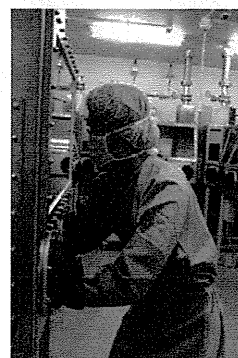
## BSL4実験室でのPPE



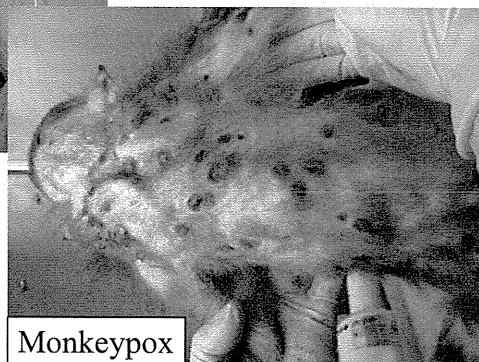
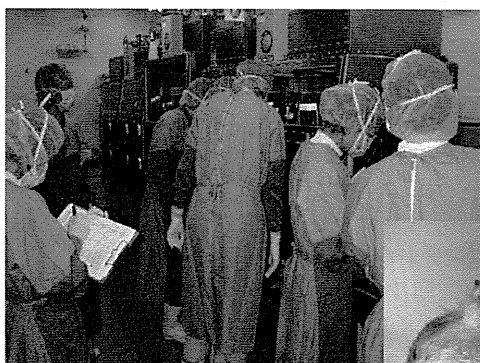
- Cabinet labo-BSL4実験室に立ち入る際は、所定の防護服、マスク、帽子、手袋及び履物を着用する。必要な場合は、実験室に備え付けの顔面保護具等を着用



ディスポ手袋は二重にする

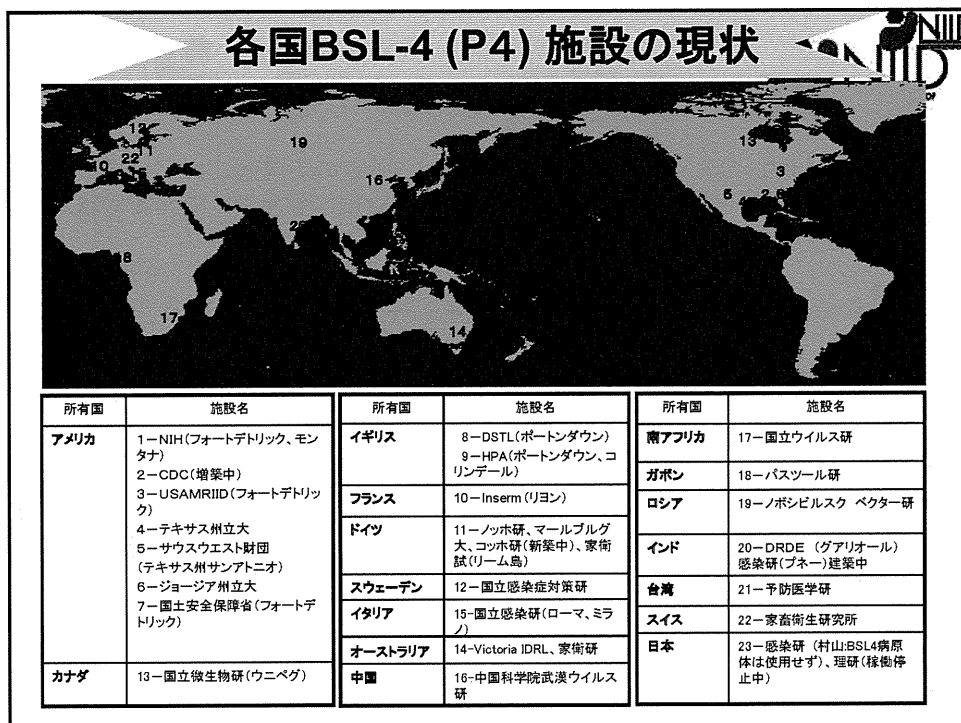


GBLでの作業



Monkeypox





## ウイルス性出血熱と新興ウイルス感染症



- 新型・新種のウイルスによるウイルス性出血熱等の発生
  - ✓ 新種の旧世界アレナウイルス(ザンビア・南ア2008 / Lujo virus)
  - ✓ 新種の新世界アレナウイルス(ボリビア2007、Chapare virus)
  - ✓ 新世界アレナウイルスの異なるウイルス間のNP 遺伝子末端での組換えによる新型アレナウイルスの発生(カリフォルニア1999/2000 / Whitewater Arroyo virus)
  - ✓ 新新種のエボラウイルス(ウガンダ2007-8、Bundibugyo ebolavirus)
  - ✓ 新種のフレボウイルス(急性熱性血小板減少症、中国2009-2010)
- 欧米での輸入感染症としてのウイルス性出血熱の発生
  - ✓ マールブルグ熱患者がオランダ・米国で発生(2008)
  - ✓ ラッサ熱患者の英国・米国・スウェーデンで発生(2009-2011)
- 想定されない動物からの危険なウイルス検出
  - ✓ 輸入齧歯類からのサル痘患者発生(米国2003、約70名)
  - ✓ ブタのエボラウイルス感染症(フィリピン2008)

## Tick born anemia caused by emerging bunyavirus in China



### 河南省、発熱を伴う血小板減少症候群の予防と治療を強化

中国河南省衛生庁 2010年9月10日

2010年9月8日、中国の新京報などのメディアは河南省信陽市商城県で発生したダニに噛まれて死亡した病例について報道しました。2010年9月9日の河南省衛生庁発表によると、衛生庁はこの件を非常に重視し、速やかに当省の専門家を現場に派遣し、調査と指導に当たらせています。

(河南省衛生庁の発表内容)

省全体のモニタリングと統計によると、河南省では2007年5月信陽市が初の発熱を伴う血小板減少という病状を示したアナプラズマ症例を報告して以来、2010年9月8日までに、河南省で本病例が全部で557件発見され、うち18人が死亡しました。主に信陽市の商城県、淮河、光山県、平橋区に集中しています。

衛生庁は当該疾病の予防と治療を高度に重視しています。各業務を順調にやっていくために、2008年から、「医療機構におけるアナプラズマ症のモニタリング規則」、「アナプラズマ症疫学調査規則」、「プラズマ症診療規則」を印刷し配布を行いました。同時に衛生部の「ヒト顆粒球アナプラズマ症予防コントロールに当たる技術的マニュアル(試行)」などの文書を各関連機構に送付しました。また、各レベルの医療衛生機構に対して疾病予防治療の指導と標準化を行いました。近年来、国家と省レベルの疾病コントロール機構と共同した努力により、発熱を伴う血小板減少という臨床病状を引き起こさせるブニヤウイルスを発見し実証しました。モニタリングの視野を広げて、即時に類似症例を発見するために、衛生部は2010年5月に中国疾病予防コントロールセンター及び臨床などの関係専門家を集め、「発熱を伴う血小板減少総合症のモニタリング規則(試行)」を編纂・印刷しました。規則により、衛生庁はさらに発熱を伴う血小板減少総合症のモニタリングを展開しました。

THE NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE

ORIGINAL ARTICLE

### Fever with Thrombocytopenia Associated with a Novel Bunyavirus in China

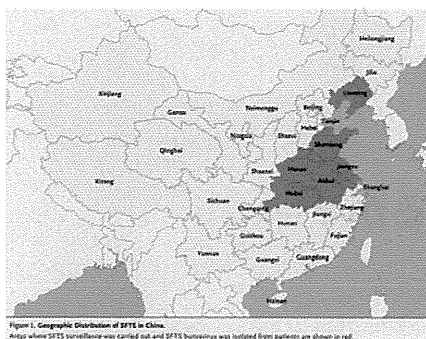


Figure 1. Geographic Distribution of SF12 in China. Henan where SF12 bunyavirus was first isolated and SF12 bunyavirus was isolated from patients are shown in red.

ウイルスの同定

sequence-independent, single-primer amplification (SISPA) method

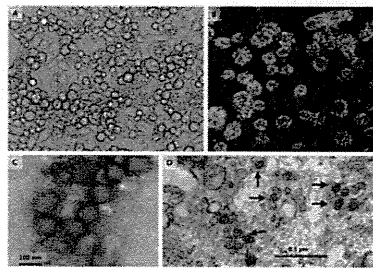
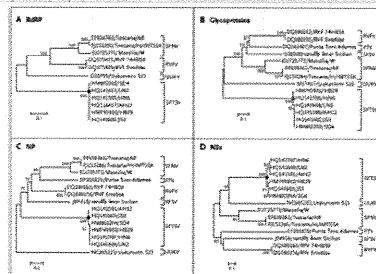


Figure 2. Morphologic Features of SF12 Bunyavirus.





## VHF検査や防疫上の問題点-1



- 想定されない動物からの危険なウイルスの検出
  - 知らずに危険なウイルスが輸入されて、接触者が暴露される危険性
  - 例: ブタのエボラウイルス感染症
- 新種のアレナウイルスなどが遺伝子再構成ではなく、同一セグメント内で組換えにより出現する可能性
  - 新種の危険なウイルスの感染の有無を見落としてしまう可能性
  - 例: 新世界アレナウイルスのWhitewater Arroyo virusの出現
- エボラ出血熱やラッサ熱等、新型・新種のウイルスの出現により既存のPCR等で検出できない可能性
  - 2007-8年のウガンダでのエボラ出血熱の病原が新種のBundibugyo
  - 2008年のガーナ・南アでの新種のルジョウイルス出血熱
  - 2007年のボリビアでの新種のチャパレウイルスによる南米出血熱

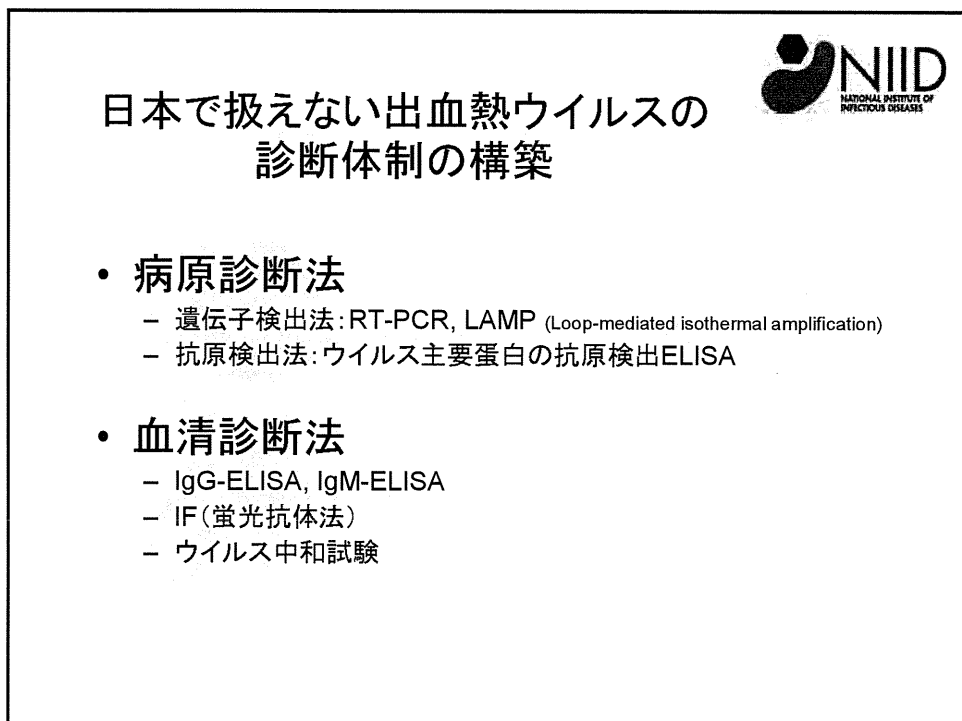
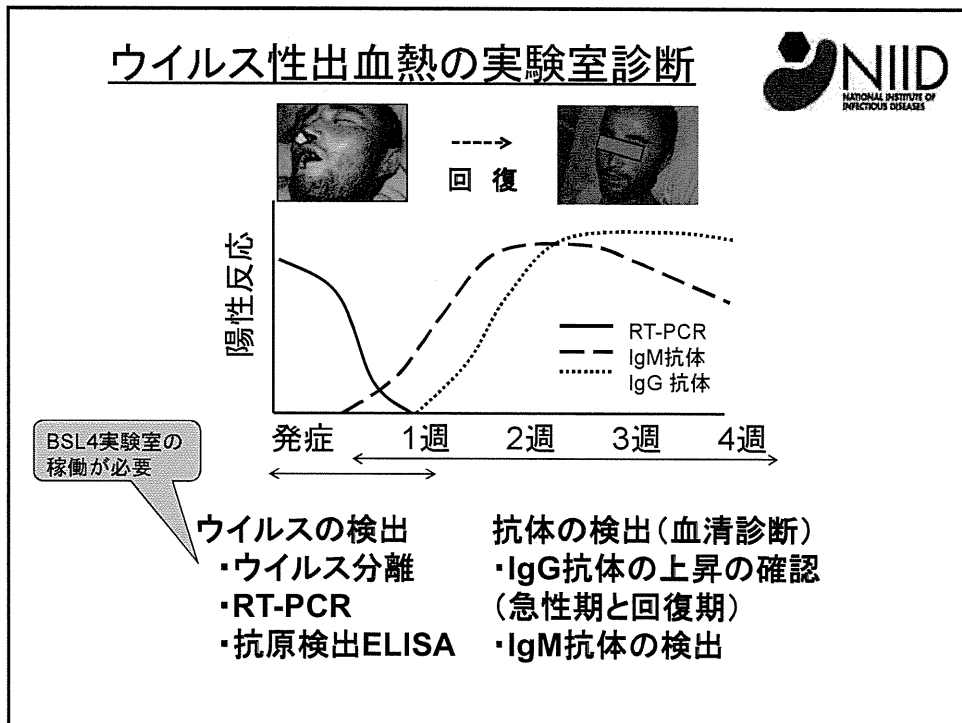
## VHF検査や防疫上の問題点-2



稼働しているBSL4施設が日本にはない！



検査、診断をどうするか？



## General strategy for the development of diagnosis system for VHF<sup>s</sup>



- PCR (RT-PCR), LAMP
- Nucleoprotein (NP):
  - Stably expressing HeLa cell line: for IF Ag preparation
  - Recombinant baculovirus to express the His-tagged form: for ELISA (IgG, IgM)
  - Monoclonal Abs: for Ag-capture ELISA
  - Cynomolgus monkey: for IgM, IgG control Abs
- Alternative PRNT using VSV-pseudotypes
- Validated using patients' specimens and/or virus specimens in collaboration with foreign BSL4 laboratories (CDC, INSERM, HPA etc)

### IF signal of authentic Ags (CDC)

