

参考資料5

シーラス社
提出資料(再配布)

参考資料5(シーラス社)

4月8日合同委員会プレゼンテーション資料

インターセプト 血液システム

平成20年4月8日

桜田 洋、シーラス社 顧問

シーラス社の立場と高度な水準

- ▶ 日本を含めた様々な市場における、3血液成分全てに対する不活化技術の企業化への取り組み
- ▶ 不活化技術開発戦略に対する基準の向上
- ▶ 根拠のある科学に基づく研究開発
 - 特異的な作用機序に基づく確実な不活化
 - ICHのガイドラインに基づく包括的な前臨床安全性試験
 - 主要な適応症に対する大規模な第3相臨床試験
- ▶ 承認取得に向けた法遵守
 - クラスIII 医療機器と医薬品の統合
 - 広範囲の検討の必要性
- ▶ 市販後、血液安全性調査プログラムの実施

インターセプト 法規制に基づく承認状況

- ▶ CE マーク(欧州連合適合性表示) – 血小板と血漿
- ▶ 継続的な各国での承認
 - フランス: 医薬品庁 (AFSSAPS) による血小板と血漿の生物製剤としての承認
 - ドイツ: 血清・ワクチン局 (PEI) による血小板の生物製剤としての承認
 - ベルギー: 血小板への保険薬価保障
- ▶ 米国における承認過程
 - トロントにおける不活化技術コンセンサス会議ならびに血液の安全性と確保に関する諮問委員会 (ACBSA) の不活化技術支持により FDA の状況が変化
 - FDA はアモトサレンの前臨床安全性データを受理
 - FDA は、SPRINT 試験での残りの臨床安全性についての質問に答えるために、ヨーロッパのデータを使うことを認める事に合意

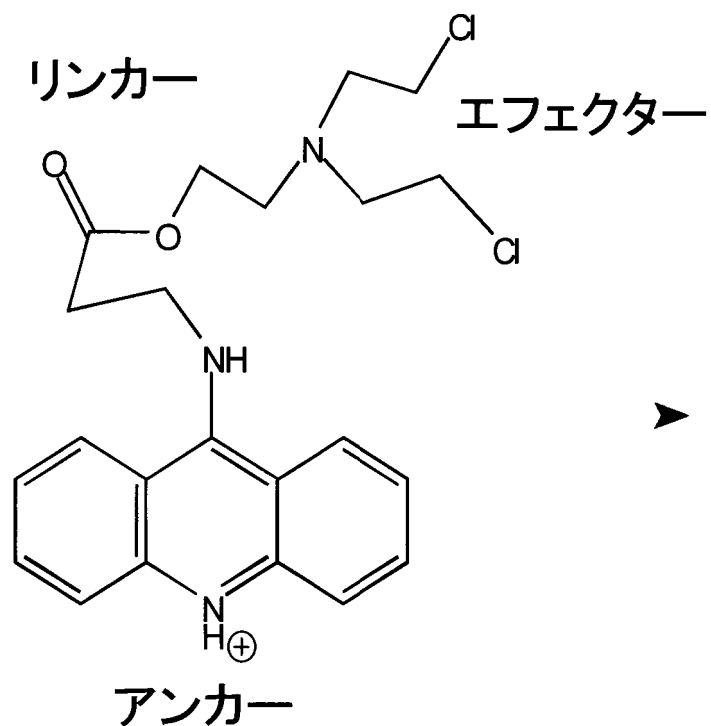
インターセプト ヨーロッパの状況

- ▶ **小児を含む広範囲の患者に対する総合的な血液安全性調査プログラムを実施することで臨床上の安全性を実証:**
 - 今日までHVプログラムで、3万件以上の輸血例を書類として提出
 - 輸血後副作用の低下を示す
 - アモトサレンによる新たな抗原性の証拠は観られなかった
- ▶ **以下の処理を不活化技術が置き換えられる事を示す臨床データを提供:**
 - バクテリア検査(米国血液銀行協会(AABB)の検出基準にもとづく)
 - ガンマー線照射(ドイツ血清・ワクチン局(PEI)による承認)
 - サイトメガロウイルス(CMV)血清診断
- ▶ **血小板添加剤の使用は戦略的な選択**
 - 輸血関連急性肺障害(TRALI)の危険性を適切に抑制
 - 同時に、血漿の回収率を増加
- ▶ **血小板と血漿に対する単一技術**
 - 男性のみの成分採血血漿不活化も可能(TRALIに対する予防策)

赤血球(RBC)に対するインターセプト・システム

- ▶ 輸血用赤血球の体外病原体不活化用具
- ▶ 構成要素
 - 装置
 - 試薬と希釈剤
 - 使い捨てのプラスチック容器
- ▶ このシステムは、核酸を標的とするアルキル化剤S-303とグルタチオン(GSH)を利用している

S-303 とGSH: 作用機序



- ▶ S-303はウイルス、バクテリア、寄生虫そして血球に迅速に拡散する

- アンカー部位がDNAとRNAに挿入される
- エフェクター部位がDNAと結合しDNA複製を阻害する
- リンカー部位は加水分解を受けることでS-300を半減期25分で生成する

- ▶ GSH (γ-グルタミル・システイニル・グリシン) は自然界に存在するトリペプチド

- ・ 細胞、ウイルスあるいはバクテリアには取り込まれない
- ・ 細胞外の作用(例えばS-303の赤血球表面における反応)を和らげる

確実な病原体不活化の効果

病原微生物	不活化率(log)
黄色ブドウ球菌	$\geq 6.9 \pm 0.4$
表皮ブドウ球菌	$\geq 7.0 \pm 0.1$
エルシニア・エンテロコリチカ	4.1 ± 0.8
セラチア・マルセセンス	4.0 ± 0.4
大腸菌	6.1 ± 0.7
HIV	$> 6.4 \pm 0.3$
ウシのウイルス性下痢ウイルス (C型肝炎ウイルスのモデル)	$> 4.4 \pm 0.2$
水疱性口内炎ウイルス	4.2 ± 0.1
アデノウイルス 5型	$\geq 8.0 \pm 0.3$

0.2 mM S-303, 20 mM GSH/2 b.e. NaOH を含む Nutricel 合成溶液での測定

インターセプトRBCの安全性と有効性

- ▶ インターセプトRBCの安全性はすでに実証されている
 - 単回投与と多回投与(39週まで)による静脈毒性
 - 発がん性
 - 遺伝毒性
 - 安全性薬理試験
 - 生殖毒性
 - 操作安全性
- ▶ インターセプトRBCの有効性はすでに実証されている
 - 4件の赤血球回収率スタディーの結果、24時間回収率> 75%を得た(n=128)
 - 救急輸血の患者でS-303の赤血球は、コントロールの赤血球に劣らない(n=148)
 - 慢性的輸血患者に対するS-303のデータは限定的(n=26)

免疫原性への懸念に対応したインターセプトRBCの工程改良

- ▶ 慢性的に赤血球の輸血を必要とする二人の患者で免疫学的交差反応が検出されたことでインターセプトRBCの臨床試験は中断した
 - 抗体(IgG)形成が観察されたのは一人の患者のみ
 - 抗体はS-303分子のアクリジン環に対するもので新規抗原に対する抗体ではない
 - この抗体形成の臨床上の重要性はない

- ▶ プロセスの改良が実施されたことで、抗体産生の原因となるS-303の赤血球膜表面への結合が低下した
 - 血清を用いた試験により改良プロセスを用いたインターセプトRBCでは免疫交差反応は検出されていない

インターセプトRBC 進展

- ▶ RBCプロジェクトは開発段階ながら、企業化にむけて大きく前進している:
 - 回収率と寿命の試験を2008年末に計画
 - 免疫的交差反応が存在しない事を確認するための追加の血清スタディーが進行中(n=3000)
 - 最終的な機器設計の取り組みと中心的な臨床試験の開発が進められている

インターセプトRBC結語

- ▶ シーラス社は3種類の血液成分すべてに対して不活化のプログラムに取り組み承認あるいは臨床試験を実施している唯一の企業である
 - インターセプトは現在、血小板と血漿に関して欧州で承認され上市された唯一の技術である
 - シーラス社は高い優先度で赤血球の不活化技術に取り組んでいる
 - 日本においてシーラス社は、直接的な関与、現地の製造メーカーとの提携、そして勿論日本赤十字社との緊密な協力関係のバランスを考えて進める

インターセプトRBC結語

▶ トロントPI(不活化)コンセンサス会議(2007年3月)

「不活化は、広い範囲の感染因子を不活化できる安全な方式が使えるようになったときに、実施されるべきである」

▶ 血液の安全性と確保に関する諮問委員会(ACBSA)の保健福祉省(HHS)に対する勧告(2008年1月)

「全血液製剤に対して安全で効果的な病原菌を低下させる技術の早急な開発を高い優先度で取り組み、それらが使えるようになり次第実施する」

参考資料6

バイオワン株式会社
提出資料(再配布)

4月8日合同委員会プレゼンテーション資料

インターセプトブラッドシステム

Intercept Blood System

(アモトサレンによる病原体不活化システム)

2008年4月8日

バイオワン株式会社

下坂皓洋

Baxter (Fenwal)-Cerus-バイオワン

ソラレン化合物の開発はCerusが行いその後の医療用機器としての開発、前臨床、および臨床開発はBaxterが行った。Baxterはこの開発に500億円以上投資している。しかしBaxterの事業方針の変更に伴い開発、商業化の権利をCerusに返還した。その後血液関連部門はFenwalとしてBaxterから分離した。Cerusはアジアを除く国々で活動している。

バイオワンはBaxter-Cerusからアジアでの独占的製造販売権を導入している。現在はCerus-Fenwalと協力してアジアでの普及を図っている。

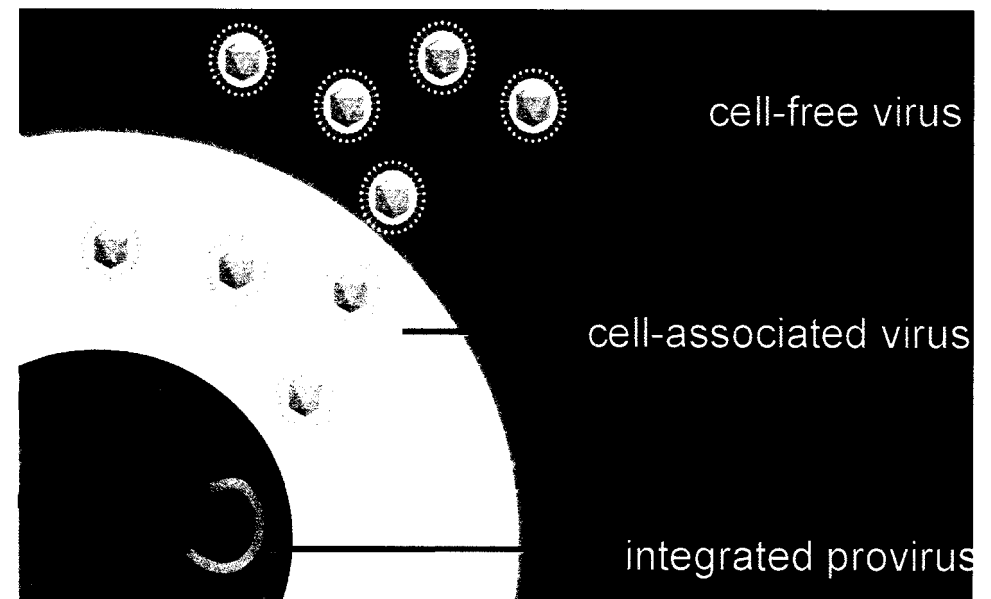
インターセプトブラッドシステム

1. インターセプトブラッドシステム(IBS)の原理
2. IBSの不活化能力
3. IBSの臨床試験及びPMS
4. 世界各国における導入状況

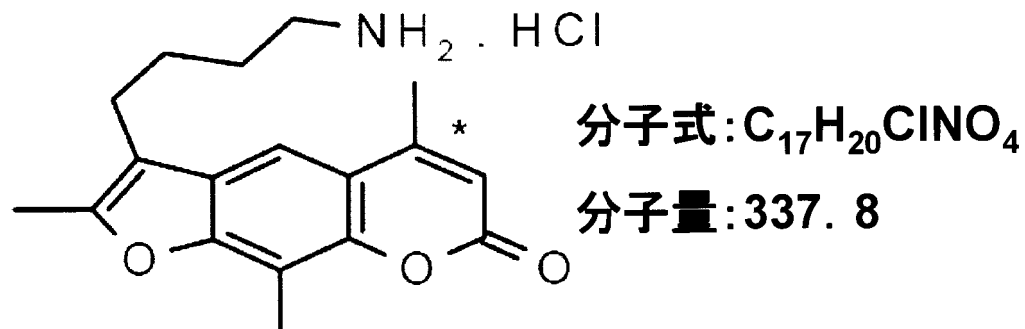
アモトサレンによる不活化の特徴

– アモトサレン+ UVA

- Cell-Free virusのみならず、Cell-associate virus、integrated provirusも不活化可能である
- 細菌、原虫、白血球も不活化可能である
- 高い不活化能力を有する
- 血小板、血漿への影響が少ない
- 安全性が高い

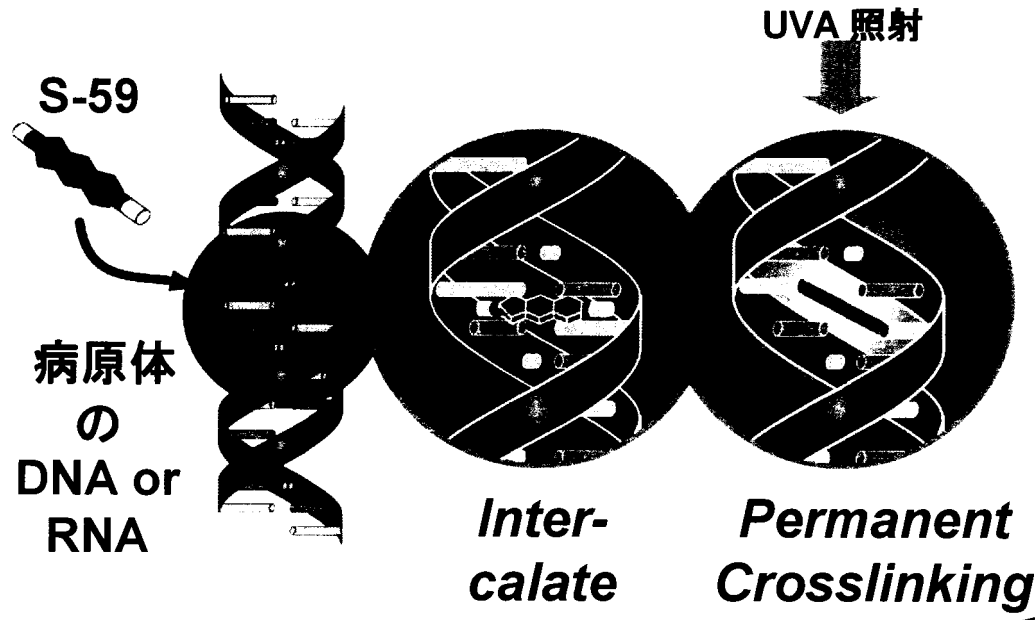


アモトサレン: S-59



1. ソラレン化合物は核酸を標的とする化合物の代表であり、食品中にも含まれている。
-レモン、セロリ、イチジク、ミツ葉、パセリ等々
2. ソラレン化合物は乾癬治療用の経口医薬品としても承認されている。
-オクソラレン錠: メトキサレン(通称8-MOP)
3. IBSに使用するソラレン化合物のスクリーニングにおいて以下の基準が用いられた。
 - ✓ 8-MOPより変異原性が低いこと。
 - ✓ ウイルスの不活化能力が高いこと。
 - ✓ *In vitro*の血小板機能への影響が低いこと。

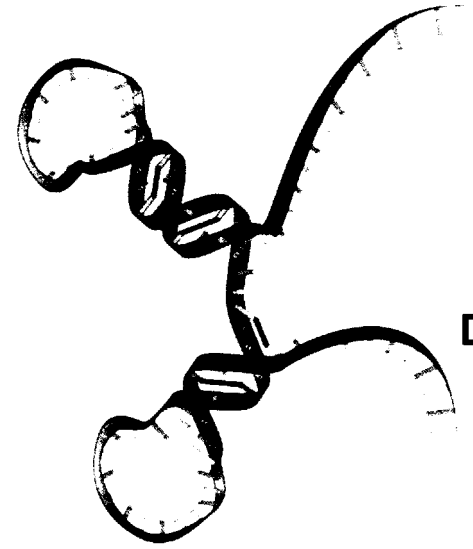
IBSの原理



二本鎖
DNA or RNA



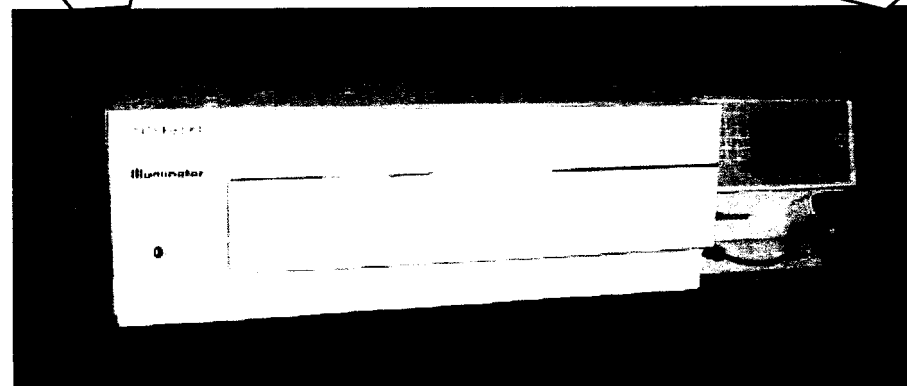
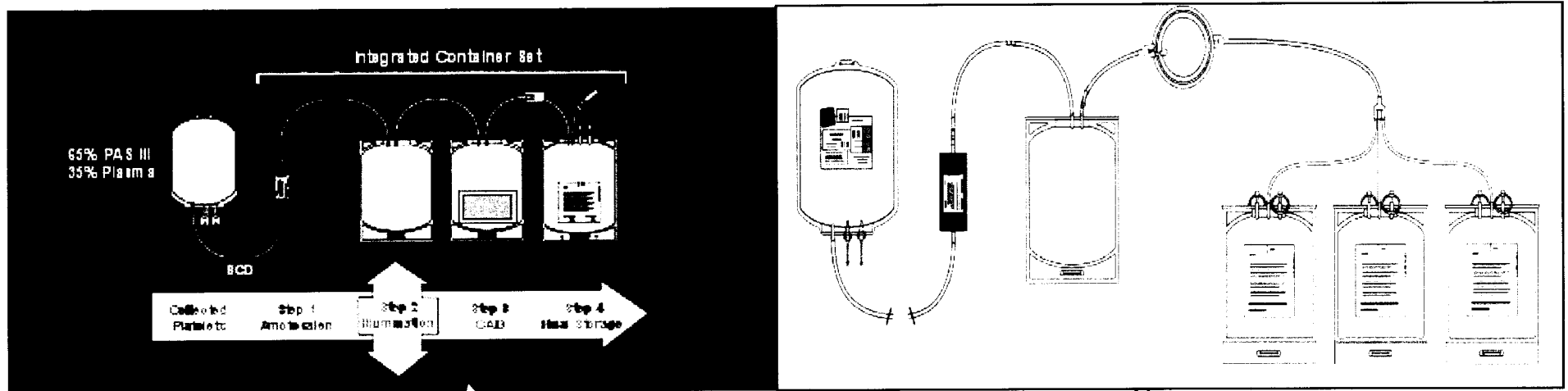
一本鎖
DNA or RNA



システム

血小板

血漿



UVA照射装置は共通

病原に対する不活化能力 -エンベロープウイルス-

ウイルス (envelope)	Log reduction (1mlあたり)	
	血小板*	血漿
HIV Cell-free	>6.2±0.1	>6.8
HIV Cell-associated	>6.1±0.3	>6.7
Clinical HIV-1	>3.4±0.4	
Clinical HIV-2	>2.5±0.3	
HBV	>5.5	>4.5
HCV	>4.5	>4.5
HTLV-I	4.2±0.1	>4.5
HTLV-II	4.6±0.1	>5.7
CMV	>5.9±0.3	
WNV	>5.5±0.4	>6.8
SARS-HCoV	>5.8	>5.5

*Lin L et al :Transfusion 45:580-590,2005

病原に対する不活化能力 -ノンエンベロープウイルス-

ウイルス (non-envelope)	Log reduction (1mlあたり)	
	血小板*	血漿
Human adenovirus 5	>5.7	≥6.9
Parvovirus B19	3.5 to >5.5	1.8
Bluetongue virus	5.6 to 5.9	5.1

*Lin L et al :Transfusion 45:580-590,2005

病原に対する不活化能力 —好気性菌—

Gram-positive (aerobic)	Log reduction (1mlあたり)	
	血小板*	血漿
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	> 6.6±0.1	>7.3
<i>Staphylococcus aureus</i>	6.6±0.1	
<i>Staphylococcus pyogenes</i>	> 6.8±0.1	
<i>Corynebacterium minutissimum</i>	> 6.3±0.1	
<i>Bacillus Cereus</i>	> 5.5±0.2	
Gram-negative (aerobic)	血小板*	血漿
<i>Eschericia coli</i>	> 6.4±0.1	
<i>Serratia marcescens</i>	> 6.7±0.1	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 5.6±0.2	≥7.4
<i>Enterobacter cloacae</i>	5.9±0.1	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4.5±0.1	
<i>Salmonella choleraesuis</i>	> 6.2±0.1	
<i>Yersinia enterocoliticus</i>	> 5.9±0.2	>7.3

病原に対する不活化能力 — 嫌気性菌 —

	Log reduction (1mlあたり)
	血小板
Lactobacillus sp.	$>6.4 \pm 0.1$
Bifidobacterium adolescentis	$>6.0 \pm 0.4$
Propionibacterium acnes	$>6.2 \pm 0.2$
Clostridium perfringens	$>6.5 \pm 0.1$

Lin L et al :Transfusion 44:1496-1504,2004

病原に対する不活化能力 —その他—

	Log reduction (1mlあたり)	
	血小板	血漿
Borrelia burgdorferi (ライム病)	>6.9±0.1 *	>10.6
Treponema pallidum	6.8±0.2 to 7.0±0.2*	>5.9
Trypanosoma cruzi (シャーガス病)	>5.3±0.3 **	>5.0
Plasmodium falciparum (マラリア)	>7.0±0.1 #	≥6.9
Babesia microti		>5.3
白血球 T-Cell	>5.4±0.3	

*Lin L et al :Transfusion 44:1496-1504,2004

**Castro E et al: 47th ASH annual meeting,2005

#Dupuis K et al: 8th Regional European Congress of ISBT,2003

INTERCEPT Blood System versus gamma irradiation: Extent of nucleic acid modification

	INTERCEPT Blood System	2,500 cGy gamma irradiation
Leukocyte inactivation^{1,2}		
Inactivation (LDA analysis)	>5.4 log	>5.0 log
Frequency of DNA modification	~1/83 base pairs*	~1/37,000 bases**
Cell-associated virus inactivation³		
CMV	>5.9 log PFU/ml	Not effective
HIV-1	>6.1 log PFU/ml	Not effective

- The INTERCEPT Blood System modifies nucleic acids more extensively than gamma irradiation
- The INTERCEPT Blood System provides effective inactivation of both leukocytes and leukocyte-associated viruses

*Stops transcription and replication. **Stops replication. 1. Grass J, et al. *Blood*. 1998;91:2180–8.
2. Grass J, et al. *Blood*. 1999;93:3140–7. 3. Approved product claims under CE mark.

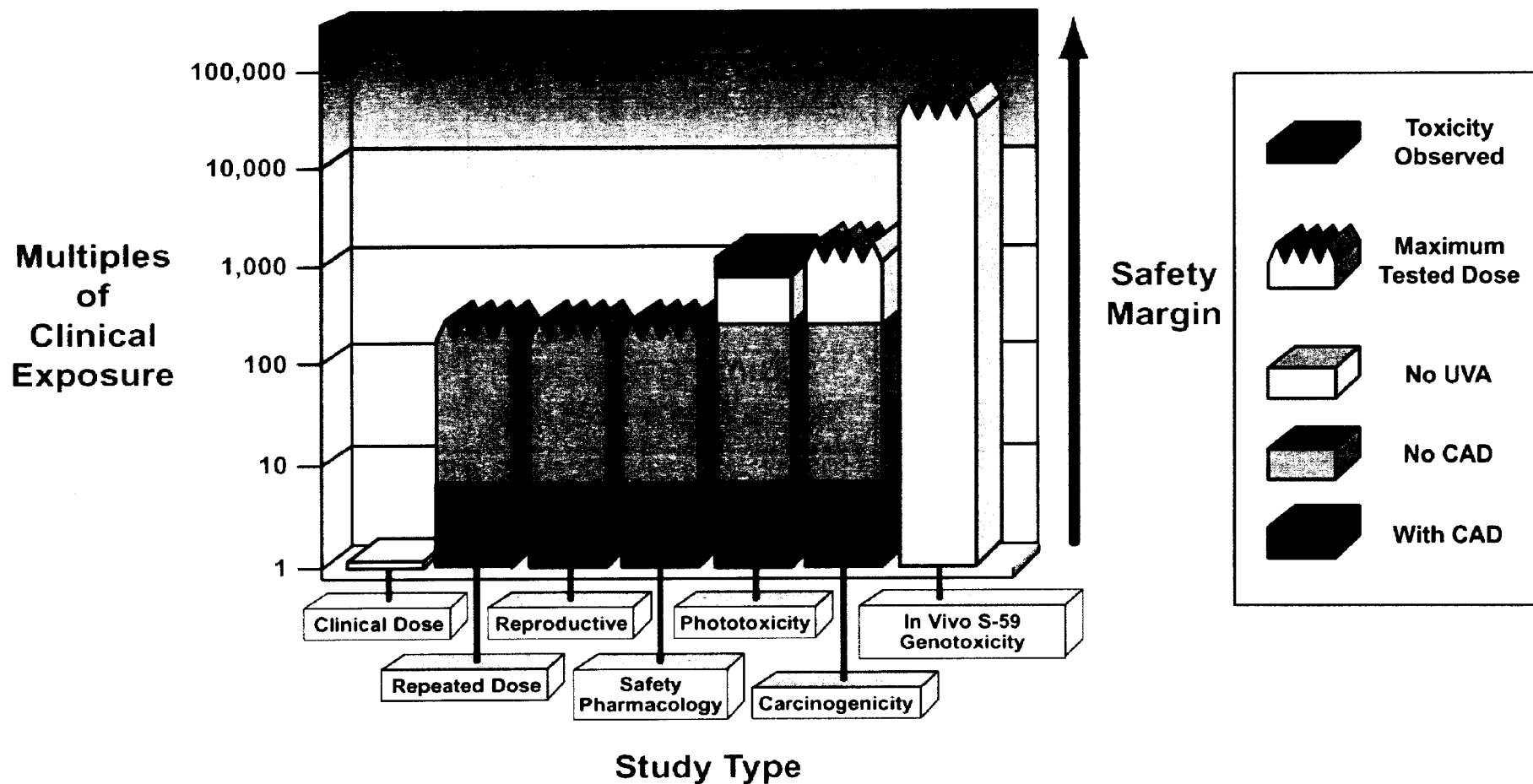
安全性試験(ICH準拠)

	血小板	血漿
安全性薬理試験	○	○
急性毒性試験	○	○
反復投与毒性試験:1ヶ月	○	○
反復投与毒性試験:3-9ヶ月	○	○
生殖発生毒性試験(雌雄)	○	○
遺伝毒性試験	○	○
がん原性試験	○	○
光毒性試験	○	○
胎児毒性試験	○	○
ADME	○	○
作業者の安全性	○	○

安全性試験結果はFDA(US)、TUV(EU)、AFSSAPS(FR)、PEI(GEM)より安全性が確認されている。rved.

S-59の安全性

100倍以上の安全領域(対臨床)



臨床試験(血小板-1)

健常者の試験

試験名	試験デザイン	血小板用量	項目	試験での輸血回数	被験者数 ^a
試験1A	無作為化単盲検 クロスオーバー	放射能標識同種血小板 (CAD未処理)10ml	回復と 生存	1 (期間当たり)	24
試験1B	無作為化単盲検 クロスオーバー	治療用量の同種血小板	S-59の 薬物動態	1 (期間当たり)	10
試験2A	試験1Aの 一群過去対象群	放射能標識同種血小板 10ml	回復と 生存	1	16
試験2B	試験1A・1Bの 一群過去対象群	γ 線照射した放射能標 識同種血小板10ml	回復と 生存	1	15

a: 試験の輸血を1回でも受けた被験者(評価可能症例)の数

臨床試験(血小板-2)

血小板減少症の患者の試験

試験名	試験デザイン	血小板用量	項目	試験での輸血回数	被験者数 ^a
試験2C	無作為化二重盲検クロスオーバー	治療用量の2倍のアフェレーシス血小板の単回輸血	Template出血時間、CI、CCI、止血、輸血間隔	1 (期間当たり)	32
欧州 第Ⅲ相 試験	無作為化二重盲検	治療用量パフィーコート血小板の最大8週間反復輸血	CI、CCI、止血、血小板数および赤血球の輸血回数、輸血間隔、輸血反応	反復 (1サイクル当たり8週間)	103 (52)
米国 第Ⅲ相 試験	無作為化二重盲検	治療用量アフェレーシス血小板の最大4週間反復輸血	Grade2 WHO出血、Grade3/4 WHO出血、CI、CCI、止血、血小板および赤血球の輸血回数	反復 (1サイクル当たり4週間)	645 (318)
欧州 第ⅢB相 試験	一施設での過去対照一群オープンラベル	治療用量のパフィーコート血小板の最大4週間反復輸血	CI、CCI、止血、血小板数および赤血球の輸血回数、輸血間隔、輸血反応	反復 (4週間)	20 ^b
欧州 第ⅢB相 試験	無作為化二重盲検	治療用量アフェレーシス血小板の最大4週間反復輸血	CI、CCI、止血、血小板数および赤血球の輸血回数、輸血間隔、輸血反応	反復 (4週間)	42 (22)

a: 試験の輸血を1回でも受けた被験者(評価可能症例)の数

b: 同一施設の欧州第Ⅲ相試験で治療した患者19例の過去対処群を使用した。

米国第Ⅲ相試験

止血効果

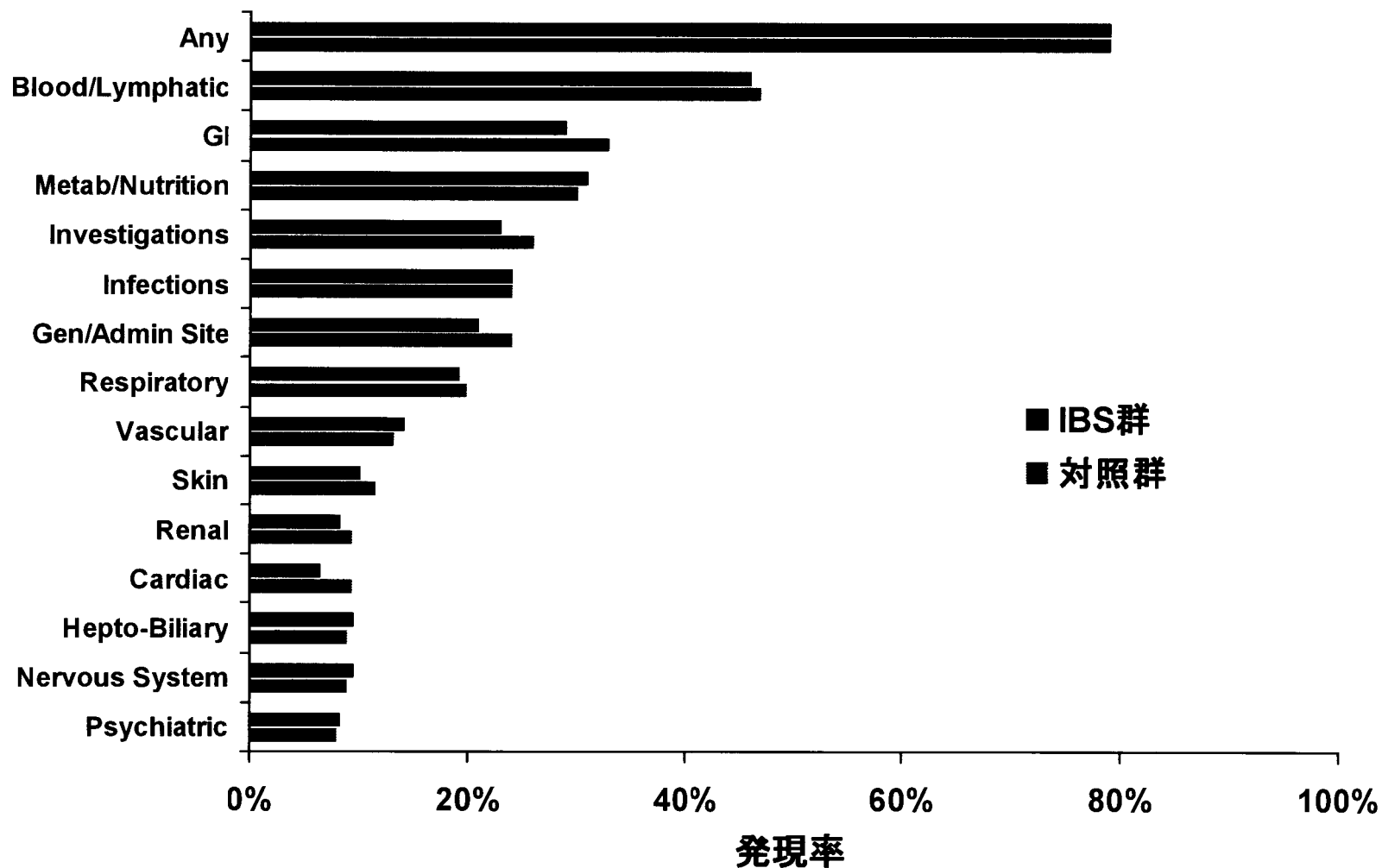
	<u>IBS群 n=318</u>	<u>対照群 n=327</u>	<u>P Value</u>
Grade 2出血患者 (%)	58.5	57.5	0.80
Grade 3 又は4 出血患者 (%)	4.1	6.1	0.24

有害事象発現状況(第Ⅲ相試験)

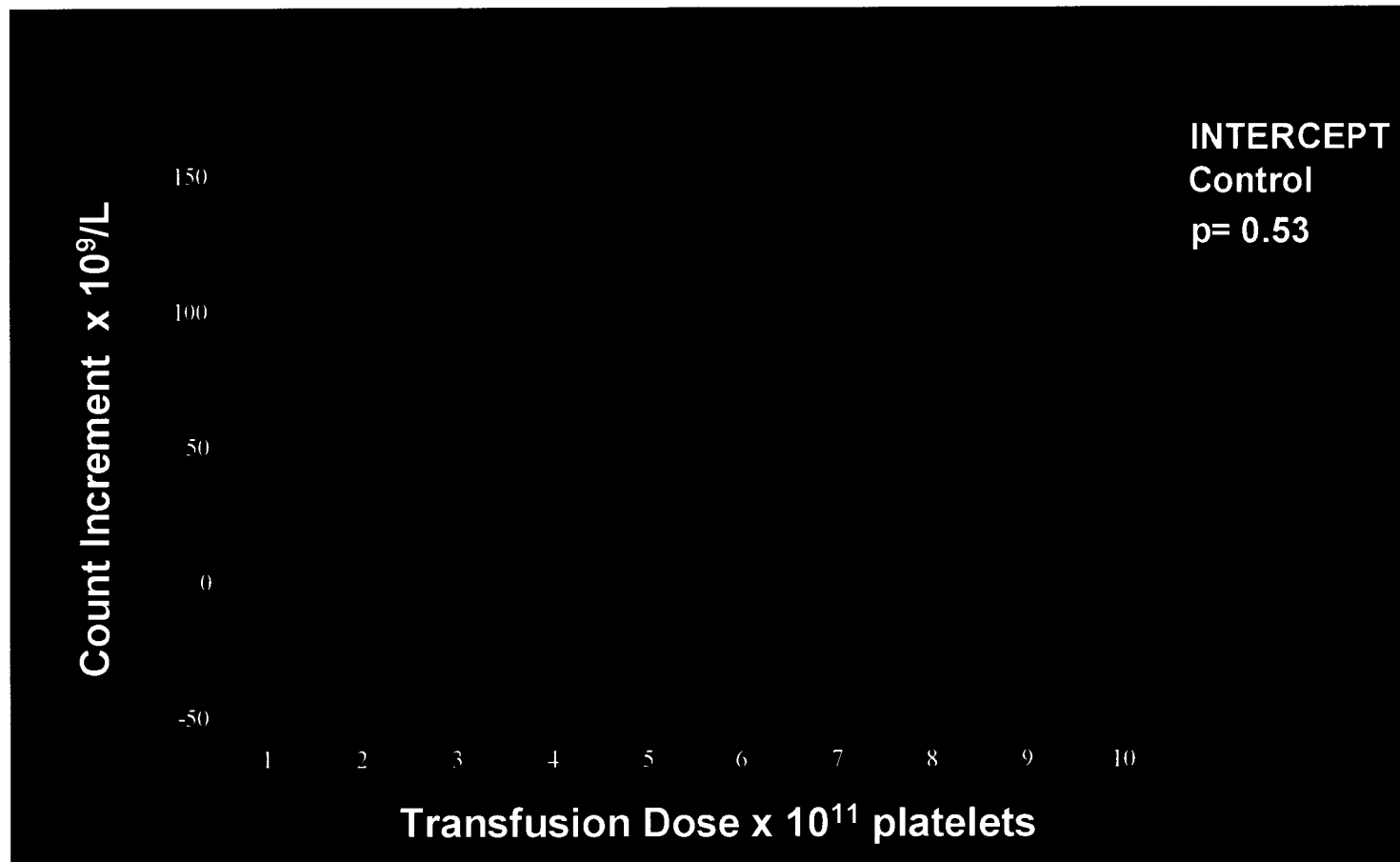
	米国		欧州	
	INTERCE PT (n=318)	対照 (n=327)	INTERC EPT (n=52)	対照 (n=51)
全有害事象 (%)	99.7	98.2	100	100
Grade3/4 (%)	27	25	27	25
死亡例 (%)	4	5	8	8
急性輸血後反応	3*	4	6	6

*: P=0.05

米国第Ⅲ相試験における安全性 Grade 3/4 の有害事象発現状況



欧州第Ⅲ相試験 輸血 1 時間後の血小板増加数



Blood 2003;101:2426

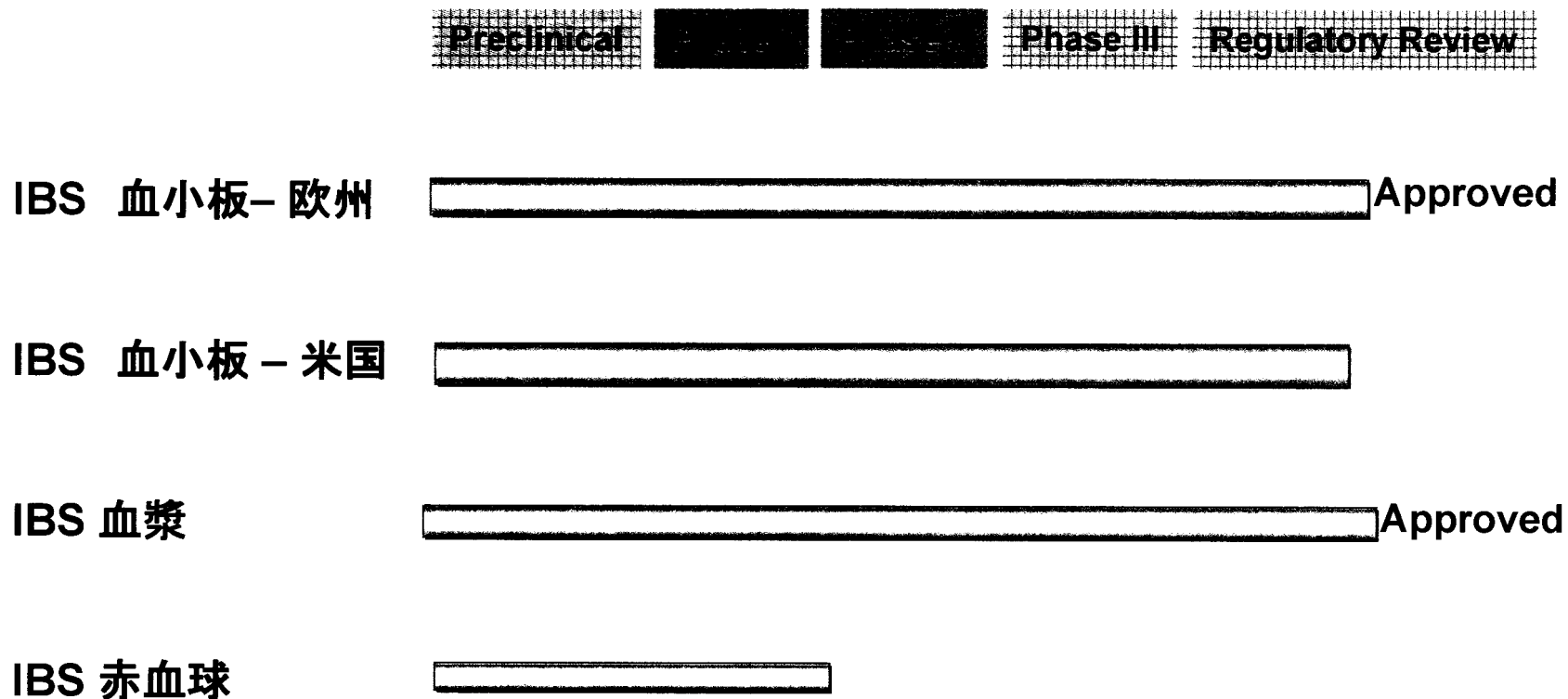
臨床試験(血漿)

フェーズ	項目	被験者数
I	安全性、S-59薬物動態	10
II	ファクターVIIの動態	27
II	プロテインCの動態	17
II	プロテインSの動態	16
III	血液凝固障害患者 パイロット試験	13
III A	先天性欠乏症患者	34
III B	後天的血液凝固障害患者	121
III C	血栓性血小板減少性紫斑病	35

IBS処理FFP:疾患別被験者数及び輸血数

試験	被験者数	輸血数
先天性疾患	34	421
後天性疾患	60	752
血漿交換	17	3185

IBSの開発状況

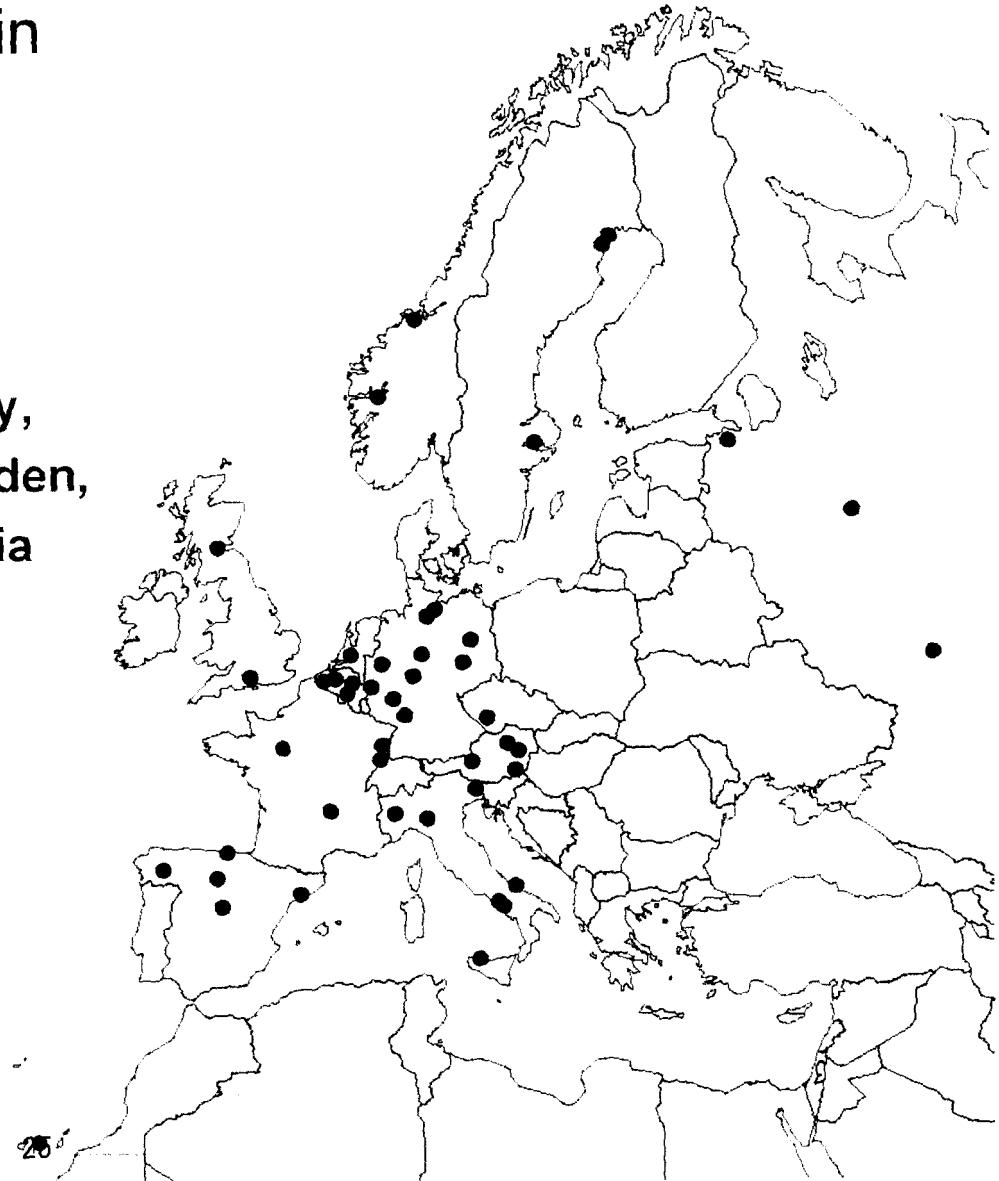


IBSはクラス3の医療機器として承認されている

INTERCEPT platelets : European experience

- >120,000 doses transfused in clinical use
- 56 centers 16 countries
 - Austria, Belgium, Denmark, France,
 - Germany, Holland, Italy, Norway,
 - Portugal, Scotland, Spain, Sweden,
 - Switzerland, UK, Samara, Russia

The INTERCEPT Blood System in routine use in blood centers across Europe



EFS-La Réunion : Adverse reactions with INTERCEPT treated Apheresis PC -1 (M F Angelini-Tibert and P. Rasongles)

year	2005	2006/3 - 2007/3
nb of patients	NA	427
nb of apheresis PC	1194	1948
nb of adverse reactions	109	19
Adverse reactions / 1000 APC	91,3	9,8



Adverse transfusion reactions during platelet concentrates (PC) transfused at EFS-Alsace

	(1) PC (100% plasma) 1/1/2003 – 1/2/2004 99.6 %	(2) PC (35% plasma+65% T-Sol) 1/9/2005 – 1/6/2006 95 %	(3) PC INTERCEPT (35% plasma+65% Intersol) 1/9/2006 – 1/8/2007 99 %
Patients (n)	59	33	36
Adverse reactions (n)	67 (11 RBC Imm)	41 (16 RBC Imm)	37* (19 RBC Imm)
Adverse reactions/1000 PC (n)	5.3	2.7	1.4
Patients with reactions	2.9 %	2 %	1.7 %

Period 3 : *Fever/chills : 8 ; allergy : 3 ; TRALI : 1 ; RBC immunisations : 19

Period 1 : 1 death volume overload (2 RBCC + 2 BCPC)

All 3 periods : No bacterial sepsis

All 3 periods : 145 adverse reactions : SEVERITY grade 1 = 61 %; grade 2 = 33 % (46 RBC immunisations)

IMPUTABILITY grade 2, 3, 4 = 87 %; grade 3 and 4 = 70 %

Acute transfusion reactions

- Each transfusion was assessed for acute transfusion reactions in both the control (C-PLT and C-RBC) and INTERCEPT components (I-PLT)

Component	Control period		INTERCEPT period	
	C-PLT	C-RBC	I-PLT	C-RBC
Months	18	18	18	18
Transfusions	3,529	9,551	4,051	11,493
Reactions	1.3%*	0.4%	0.9%*	0.4%

*p=0.002.

Platelet concentrates (PC) transfused* at EFS-Alsace

	PC (100% plasma) 1/1/2003 – 1/2/2004 99.6 %	PC (35% plasma+65% T-Sol) 1/9/2005 – 1/6/2006 95 %	PC INTERCEPT (35% plasma+65% Intersol) 1/9/2006 – 1/8/2007 99%
Patients (n)	2,050	1,678	2,069
PC transfused (n)	10,629	9,151	13,241**
Mean / patient	5.2	5.5	6.4
Median / patient	2.0	2.0	2.0
Minimum	1	1	1
Maximum	104	114	289
Platelets x10¹¹ / patient			
Mean	26.9	24.2	27.0
Median	10.4	8.9	8.4
Minimum	0.2	0.2	0.5
Maximum	450	445	1,149

* Ratio LR-BCPC/LR-APC : 62/38 - ** 21% : 1 PC ; 34 % : 2 PC ; 20 % : 3-5 PC ; 23 % : 6-50 PC

All Patients(Belgium)

18 months before and after implementation of INTERCEPT Platelets

Period	Control	INTERCEPT	Δ
Platelet transfusions	3,528	3,932	+11%
Patients receiving platelets	352	400	+14%
Platelet transfusions/patient	10.0	9.8	-2%
RBC transfusions	9,506	11,471	+21%
Patients receiving RBC	1703	2031	+19%
RBC transfusions/patient	5.6	5.6	0

Osselaer JC. Presented at ISBT, Athens, Greece, 2005.

アジアの状況

◆ 中 国

審査中：年内販売開始予定

◆ 韓 国

KRCからの申し入れに基づき共同研究準備中

審査中：年内販売開始予定

◆ シンガポール

承認済

Validation中

◆ タ イ

販売済

◆ ベトナム

販売済

◆ マレーシア

販売済

まとめ

- 欧州で承認されており、欧州各国における導入が進んでいる。
- Cell-free ウイルスのみならず、cell integrated, provirusにも効果がある。
- 細菌検査が不要になる。
- CMV等のウイルスのテストが不要になる。
- 新興病原に対するスクリーニング検査の導入が不要になる可能性がある。
- 欧州では白血球不活化のための放射線照射を中止している。
- 輸血後の急性反応が少なくなる。
- 製剤の出荷までの時間は細菌検査と比べて早い。
- IBS処理済の血小板濃厚液は、欧州では7日間の保存期間が承認されている。
- 血漿の65%を血小板保存液で置換するため、置換された血漿の新たな利用方法が考えられる。

インターセプトブラッドシステムの概要

バイオワン株式会社

2008年4月1日

インターセプトブラッドシステム (IBS) はソラレン化合物の1種であるアモトサレン (S-59) を用いて血小板又は血漿中の病原体を不活化するシステムである。

1. 本システムの構成

血小板用の本システムは、プレパレーションセット、プロセッシングセット (血小板), 及びイルミネーターより構成されている。

図 1.1 プレパレーションセット

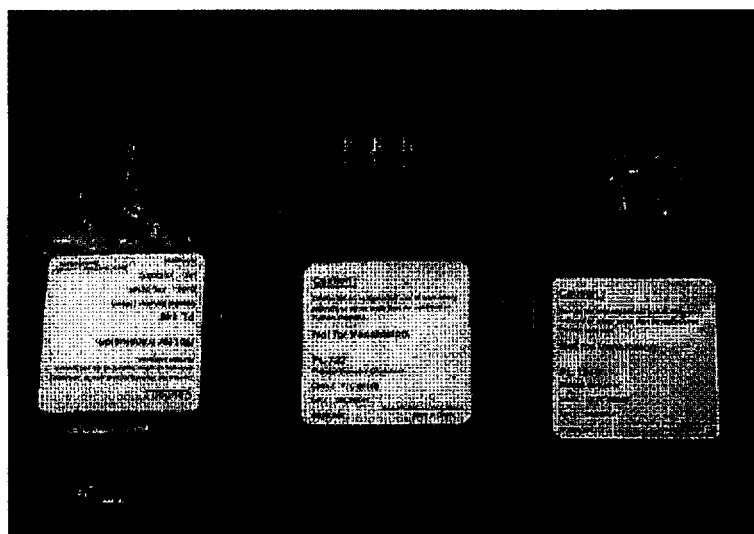


表 1.1 インターソルの組成

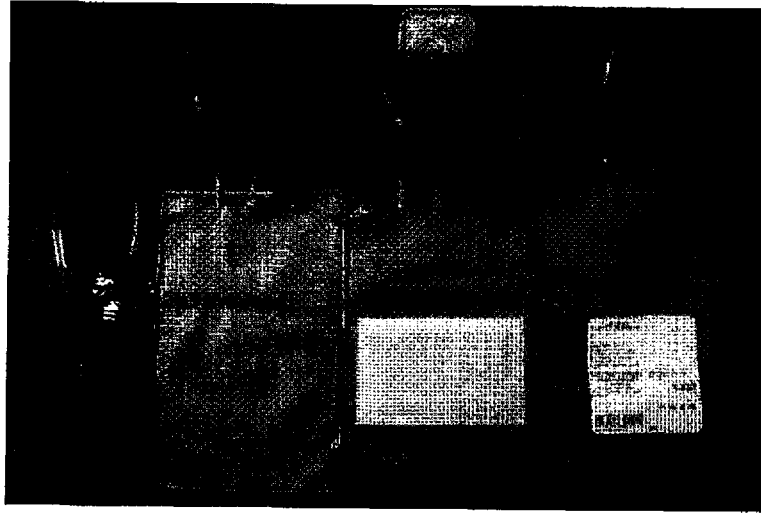
- 1) : 日本薬局方収載品
- 2) : CPD, MAP, 電解質輸液等の成分として既許可. EP 収載品.

成 分	体内に入る量	処方量
塩化ナトリウム ¹⁾	814 mg	4.52 g
酢酸ナトリウム・三水和物 ¹⁾	796 mg	4.42 g
無水クエン酸ナトリウム・二水和物 ¹⁾	572 mg	3.18 g
無水リン酸水素ナトリウム ¹⁾	549 mg	3.05 g
リン酸二水素ナトリウム・二水和物 ²⁾	189 mg	1.05 g
注射用水 ¹⁾	180 ml	1000 ml
pH	7.2	

【インターソル：プレパレーションセットに含まれている】

インターソルは本システムで効率的に不活化処理を行うために開発された緩衝液である。不活化処理を行う際に本緩衝液を用いて 35%血漿/65%インターソルに調整するため、血小板保存に使用されている血漿の量を減らすことができる。

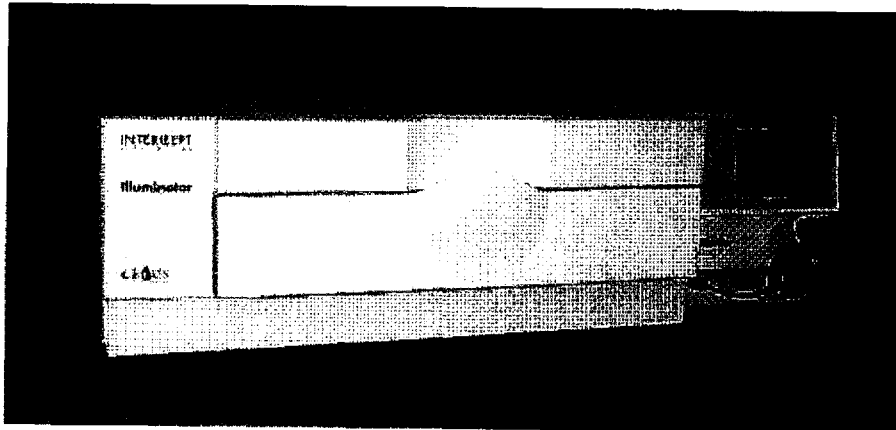
図 1.2 プロセッシングセット (血小板)



【S-59：プロセッシングセット (血小板) に含まれている】

S-59 はソラレン化合物であり，A 紫外線照射により活性化し病原因子の DNA あるいは RNA を架橋することにより病原因子を不活化する．プロセッシングセットには，3mM (1.01g/L) の S-59 溶液が 15mL 又は 17.5mL 充填されている．

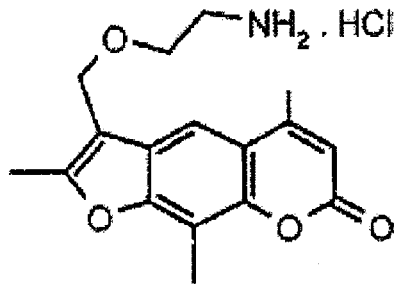
図 1.3.イルミネーター



2. S-59の作用機序

本システムにおいて病原因子の不活化にはソラレン化合物の S-59 を用いる。

図 2.1 アモトサレン (S-59) の構造式

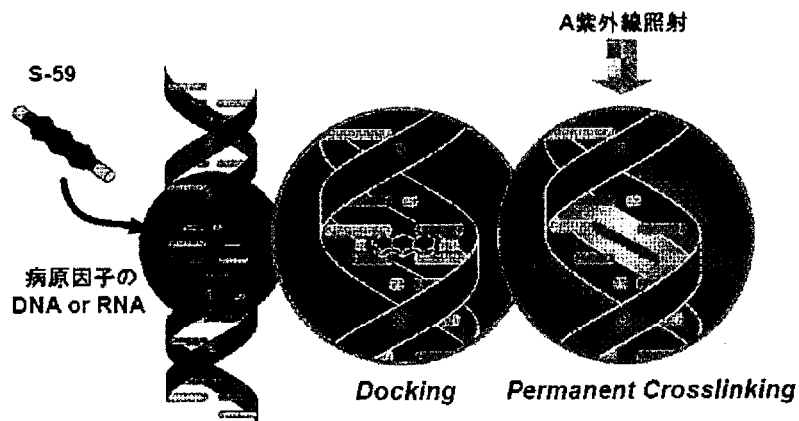


S-59 の構造式

分子式：C₁₇H₂₀ClNO₄ 分子量：337.8

ソラレン化合物は核酸を標的とする化合物の代表である(Cimino ら, 1985). ソラレン分子は光源のない状況において, 感染性の病原体及び白血球の DNA 及び RNA のらせん部分に可逆的に入り込む (インターカレート). インターカレートしたソラレン分子は, A 紫外線照射により活性化を受けるとピリミジン塩基と反応し永久的に共有結合を形成する。

図 2.2.の作用機序 (その 1)

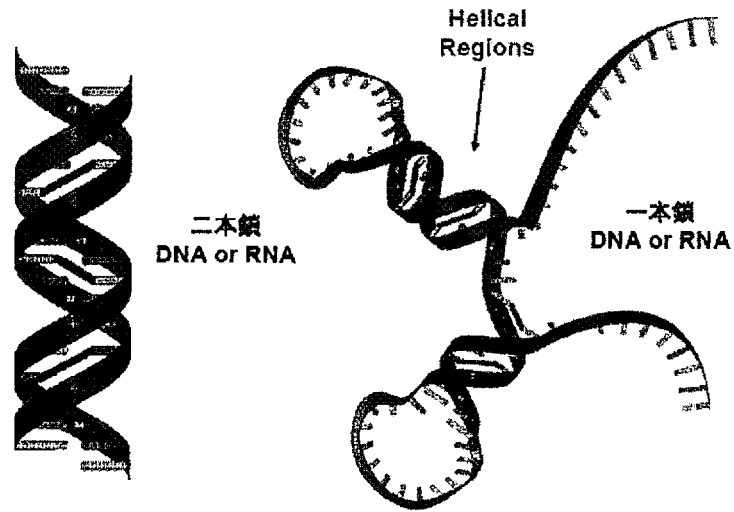


ソラレン分子は 2 箇所の反応性部位を有するので, 病原因子の遺伝子との架橋を形成することができる。ソラレンにより修飾された病原因子の遺伝子は, もはや複製することができない。対照的に血小板はそれ以上分化することがない細胞であり, その機能を発揮するために核酸の複製を必要としない。したがって血小板機能は A 紫外線を用いるソラレン

化合物の活性化により影響されないと考えられる。

図 2.3 S-59 の作用機序 (その 2)

二本鎖にも一本鎖にも結合する



3. S-59 による病原因子の不活化能力

現在までに S-59 と A 紫外線を用いたて実施された血小板濃厚液中の病原因子の不活化能力を以下に示す。

表 3.1 S-59 の病原因子不活化能 (1)

病原体	血小板	血漿
	対数減少値 (95%CI)	対数減少値 (95%CI)
エンペローブウイルス		
HIV-1 (cell-free)	>6.2	>5.9
HIV-1 (cell-associated)	>6.1	>6.4
HIV-1 (臨床分離株, Z84 株)	>3.4	
HIV-2 (臨床分離株, CBL20 株)	>2.5	
DHBV (HBV モデル)	>6.2	>5.1
HBV (MS-2)	>5.5	>4.5
BVDV (HCV モデル, NADL 株)	>6.0	>6.0
HCV (Hutchinson 株)	>4.5	>4.5
HTLV-I	4.2	
HTLV-II	4.6	
CMV (cell-associated, AD169 株)	>5.9	
WNV (3356 株)	>5.5	
SARS-HCoV (Urbani 株)	>5.8	
Vaccinia virus (IHD-W 株)	>4.7	
ノン・エンペローブウイルス		
Human adenovirus 5	>5.2	
Parvovirus B19	3.5 - >5.0	
Bluetongue Virus (serotype 11, Station 株)	5.6 - 5.9	
Feline conjunctivitis Virus (FC 株)	1.7 - 2.4	
Simian adenovirus 15 (AP4398 株)	0.7 - 2.3	
PPV (NADL-2 株)	0	

不活化レベルは培養細胞または動物モデルの感染性試験を用いて測定し、「対数減少値」で表した。「>」は処理後の被験試料中に生存病原因子が検出されなかったことにもとづき、不活化が検出限界未満であることを示す。

HIV：ヒト免疫不全ウイルス DHBV：アヒル B 型肝炎ウイルス HBV：B 型肝炎ウイルス
 BVDV：牛ウイルス性下痢ウイルス HCV：C 型肝炎ウイルス HTLV：ヒト T 細胞好性ウイルス
 CMV：サイトメガロウイルス WNV：ウエストナイルウイルス SARS-HCoV：SARS ヒトコロナウイルス
 PPV：パラボックスウイルス

表 3.2 S-59 の病原因子不活性化能 (2)

病原体	血小板	血漿
	対数減少値	対数減少値
好気性菌		
グラム陽性菌		
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	>6.6	5.7
<i>Staphylococcus aureus</i>	6.6	
<i>Streptococcus pyogenes</i>	>6.8	
<i>Listeria monocytogenes</i>	>6.3	
<i>Corynebacterium minutissimum</i>	>6.3	
<i>Bacillus cereus (vegetative)</i>	>5.5	
グラム陰性菌		
<i>Escherichia coli</i>	>6.4	
<i>Serratia marcescens</i>	>6.7	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	>5.6	5.6
<i>Enterobacter cloacae</i>	5.9	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4.5	
<i>Salmonella choleraesuis</i>	>6.2	
<i>Yersinia enterocolitica</i>	>5.9	
嫌気性菌		
グラム陽性菌		
<i>Lactobacillus sp. (99A6489)</i>	>6.4	
<i>Bifidobacterium adolescentis (00A3154)</i>	>6.0	
<i>Propionibacterium acnes (00A6608)</i>	>6.5	
<i>Clostridium perfringens (ATCC 43150)</i>	>6.5	
スピロヘータ		
<i>Treponema pallidum</i>	≥6.8 ≥7.0	
<i>Borrelia burgdorferi</i>	>6.9	

不活化レベルは培養細胞または動物モデルの感染性試験を用いて測定し、「対数減少値」で表した。“>”は処理後の被験試料中に生存病原因子が検出されなかったことにもとづき、不活化が検出限界未満であることを示す。

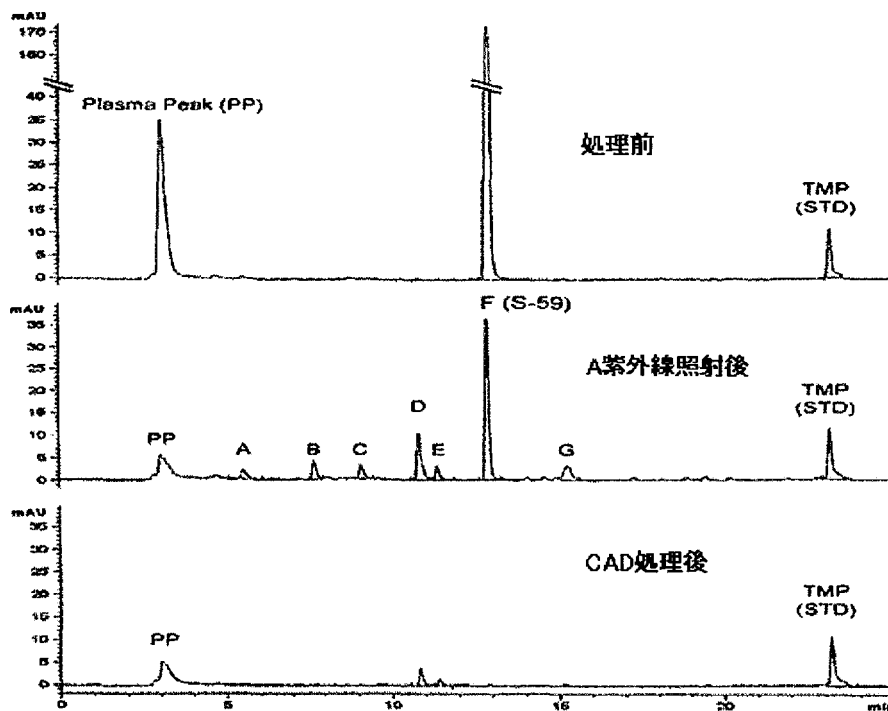
表 3.3 S-59 の病原因子不活性化能 (3)

原虫	対数減少値
<i>Trypanosoma cruzi</i>	>5.3
<i>Plasmodium falciparum</i>	>7.0

4. 残留 S-59

不活化処理の A 紫外線照射の際に S-59 は光分解される。照射後、濃縮血小板は重量百分率で S-59 の約 53% の遊離光分解生成物、26% の共有結合した光分解生成物、及び 21% の残留 S-59 を含む。これらの遊離（非結合の）光分解生成物は非常に類似しているが、HPLC で 6 種類に分離できる。

図 4.1 不活化処理に伴う S-59 の変化



照射後、300mL の濃縮血小板は、約 3.1mg の残留 S-59、8.1mg の遊離光分解生成物及び 4.0mg の結合光分解生成物を含む。

臨床での使用前に、残留 S-59 及び遊離光分解生成物は化合物除去装置 (CAD) の処理により低下させる。CAD での処理後、残留 S-59 の量は約 74~84 分の 1 に低下し、主要な光分解生成物の残留量は約 3 分の 1 に低下する。CAD 処理後、300mL の人血小板濃厚液には、約 50 μ g の残留 S-59、2.7mg の遊離光分解生成物、4mg (2mg は血漿の高分子に結合、2mg は血小板に結合) の共有結合した光分解生成物が含まれる。従って、体重 60kg の人では残留 S-59 とその光分解生成物の臨床暴露量は、単位体重あたり S-59 が約 1 μ g/kg、遊離光分解生成物が約 45 μ g/kg、結合光分解生成物が約 70 μ g/kg になると考えられる。

5. S-59 の体内動態及び代謝

S-59 のヒトにおける体内動態は Phase IB において、自己血小板濃厚液を IBS 処理し被験者に戻す検討が行なわれた。残留 S-59 の平均濃度は $0.31\mu\text{M}$ ($25.1\mu\text{g/body}$)、最高血中濃度の平均値は 1113pg/mL 、半減期の平均値は 428.1min 、AUC の平均値は $15.1\text{ng/L}\cdot\text{min}$ であった。

非臨床試験において尿中および糞中排泄物を HPLC で検討した結果、糞中では多くのマイナーピークが検出され非常に高度代謝されていることがうかがえた。また尿サンプルにおいて S-59 の代謝を検討しているが、グルクロン酸抱合および硫酸抱合は関与していない。

(8-MOP はグルクロン酸抱合および硫酸抱合の関連あり)。非臨床試験 (ラット及びイヌ) における検討では、投与後 28 日目までに約 65% が糞中、約 10% が尿中に排泄された。

非臨床試験における検討ではラット及びイヌにおいて、投与後 48 時間目までに投与された残留 S-59 (CAD 処理済) の 57%、35% が排泄された。また、投与後 28 日目までに、それぞれ 86-87%、70-84% が排出された。一方、ラットにおいて、体内に残留した S-59 は投与後 28 日目で 6% であった。

6. 血小板の機能

In vitro の試験では S-59 による不活化処理群と対象群で差がみられているがどちらも AABB の基準の範囲内であり、かつ in vivo のウサギの耳出血時間モデルでは両処理群で差が認められず、血小板止血機能に有害な影響を与えないことが判明している。

また米国の Phase III による出血の防止を End Point とした臨床試験で IBS 処理群と対象群で差がないことを実証している。

市販後の追跡調査でも IBS 処理によって血小板の登用量が増えている情報はない。

不活化処理により血小板の回収率は 7-8 % 低下するが活性面での低下は市販後の調査結果では問題になっていない。

1) in vitro における血小板機能

表 6.1 アフェレーシス血小板の in vitro 血小板機能：

検査項目	保存 5 日目 平均±標準偏差	
	CAD 非処理群	CAD 処理群
	(N = 6)	(N = 6)
血小板数 ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	1521±250	1452±234
pH	6.93±0.09	6.92±0.06
形態 (0~400)	279±20*	290±20*
低張性ショック反応, HSR (%)	45±5	45±3
ATP (nmol/血小板 10^8 個)	0.7±0.1	0.7±0.2
P セレクチン (発現率%)	51±3*	58±5*
pCO ₂ (mmHg)	27.0±3.3*	23.7±3.5*
pO ₂ (mmHg)	73.4±22.8*	84.8±22.5*
HCO ₃ ⁻ (mM)	5.6±0.7*	4.8±0.5*
乳酸 (mM)	9.9±2.2*	8.5±1.6*
グルコース (mM)	1.6±1.3*	2.1±1.1*

* : 有意差あり (Student の paired t 検定, $p \leq 0.05$)

2) in vivo における止血効果

ニュージーランド白ウサギを γ 線へ暴露し、続いて抗ウサギ血小板ヒツジ血清を注入し、重度の血小板減少症を誘発した。10 対の対照と不活化処理濃厚血小板 (S-59 $150 \mu\text{M} + 3 \text{ J/cm}^2$ A 紫外線, CAD 処理 6 時間) を評価した。ヒト血小板 (各ウサギに 2.5×10^{10} 個) の血小板減少症ウサギへの輸血により、血小板数が対照群で $6.1 \pm 2.0 \times 10^3/\mu\text{L}$ から $109 \pm 38 \times 10^3/\mu\text{L}$ 、不活化処理群で $6.4 \pm 1.5 \times 10^3/\mu\text{L}$ から $111 \pm 34 \times 10^3/\mu\text{L}$ へと増加した。血小

板減少症ウサギの輸血前の毛細血管出血時間は>900秒であった。ヒト血小板の輸血後、この出血時間は対照群で 274 ± 226 秒、不活化処理群で 259 ± 112 秒に短縮した。この2群間に統計的な有意差は認められなかった。血小板数の増加は出血時間の短縮と相関した。これらの結果は *in vivo* の動物モデルにおいて不活化処理血小板の *in vivo* での止血機能が維持されていることを支持するものである。

7. 毒性試験

- 1) 毒性試験は ICH の医薬品のガイドラインに従い実施した。被験試料は S-59 単独のみならず、S-59 で不活化処理された血小板 (CAD 処理、非処理) で実施されている。

表 7.1 毒性試験

試験項目	S-59 混合液 (A 紫外線照射)		S-59 単独
	CAD 処理	CAD 非処理	
単回投与毒性試験	実施	実施	実施
≤1ヶ月毒性試験		実施	実施
3ヶ月毒性試験	実施	実施	
がん原性試験	実施	実施	実施
遺伝毒性試験		実施	実施
生殖毒性試験	実施	実施	
安全性薬理試験	実施		
局所毒性試験		実施	

2) 反復投与毒性試験

表 7.2 反復投与毒性試験の概要

試験方法	被験物質	試験結果	実施施設	資料番号
ラット 7日間連日静脈 内投与	S-59	7日間連日投与の無毒性量は、75mg/kg/day と考えられた。	Bio Research*1	(BioResearch 53777)
ラット 14日間連日静脈 内投与	S-59	S-59, 75mg/kg/day を14日間連日投与した結果、全身的な毒性は観察されなかった。	Bio Research*1	(BioResearch 54433)
ラット 28日間連日静脈 内投与	S-59	S-59, 18.8, 37.5, 75 mg/kg/day を28日間連日投与した結果、全身的な毒性は観察されなかった。	Bio Research*1	BioResearch 53779
イヌ 7日間連日静脈 内投与	S-59	S-59, 5, 15, 30mg/kg/day を7日間連日投与した結果、毒性は観察されなかった。	Bio Research*1	(BioResearch 53778)
イヌ 28日間連日静脈 内投与	S-59	S-59, 6.25, 12.5, 25 mg/kg/day を28日間連日投与した結果、全身的な毒性は観察されなかった。	Bio Research*1	BioResearch 53780
ラット 7日間連日静脈 内投与 CAD 非処理	S-59 混合 液	7日間連日投与の無毒性量は、25mL/kgday と考えられた。	Bio Research*1	(BioResearch 53777)
ラット 14日間連日静脈 内投与 CAD 非処理	S-59 混合 液	14日間連日投与の無毒性量は、25mL/kgday と考えられた。	Bio Research*1	(BioResearch 54433)
ラット 14又は28日間 連日静脈内投与	S-59 混合 液	14又は28日間連日投与の無毒性量は、25mL/kgday と考えられた。	Bio Research*1	BioResearch 53779

CAD 非処理				
ラット 13 週間連日静脈 内投与 CAD 処理/非処 理	S-59 混 合 液	被験物質に関連する臨床 的毒性、死亡及び組織の顕 微鏡的所見は認められな かった。	ClinicalTrials Bioresearch*2	CTBR55260
イヌ 7 日間連日静脈 内投与 CAD 非処理	S-59 混 合 液	イヌに CAD 非処理の S-59 混合液 5mL/kg, 25mL/kg を 7 日間連日投与した結 果, 25mL/kg(残留 S-59 0.25mg/kg)の用量では毒 性は観察されなかった。	Bio Research*1	(BioResearch 53778)
イヌ 14 又は 28 日間 連日静脈内投与 CAD 非処理	S-59 混 合 液	CAD 非処理の S-59 混合液 5mL/kg, 25mL/kg を 14 または 28 日間連日投与し た結果, 25mL/kg で毒性は 観察されなかった。	Bio Research*1	BioResearch 53780
イヌ 13 週間間欠静脈 内投与 CAD 非処理 (3 doses/週)	S-59 混 合 液	CAD 非処理の S-59 混合液 25mL/kg を 13 週間 (3 doses/週)投与した結果, 毒 性は観察されなかった。	ClinicalTrials Bioresearch*2	CTBR56418
イヌ 13 週間静脈内間 欠投与 CAD 非処理 (1 dose/週)	不 活 化 処 理 済 血 小 板	CAD 非処理の血小板濃厚 液 25mL/kg を 13 週間(1 dose/週)投与した結果, 毒 性は観察されなかった。	ClinicalTrials Bioresearch*2	CTBR56535
カニクイザル 14 日間間欠静脈 内投与*1 CAD 非処理 (6 dose/14days)	不 活 化 処 理 済 ヒト血 小板	CAD 非処理の血小板濃厚 液 25mL/kg を 14 日間間欠 投与した結果, 毒性は観察 されなかった。	BioResearch*1	(Bio Research 54359)

() : 添付資料なし。リクエストに応じて追加。

*1 : Bio Research Laboratories Ltd.

87 Senneville Road, Senneville Quebec H9X 3R3, Canada

*2 : Clinical Trials Bioresearch Ltd.

87 Senneville Road, Senneville Quebec H9X 3R3, Canada

*6 : Battelle

505 King Ave Columbus, OH 43201-2693, U.S.A.

3) がん原性試験

表 7.3 がん原性試験の概要

試験方法	被験物質	試験結果	実施施設	資料番号
p53 遺伝子ヘテロ 接合型トランスジ ェニックマウス 26 週間間欠静脈内 投与 CAD 処理/非処理	S-59 S-59 混 合 液,	被験物質によるがん原 性は認められなかった。 ポジティブコントロール 群(p-クレシジン)にお いては, 膀胱の移行上皮 の過形成, 移行上皮/扁平 上皮癌を誘発した。	Covance*3	Covance 6918-102

*3 : Covance

9200 Leesburg Pike Vienna, VA 22182-1699, U.S.A.

4) 遺伝毒性試験

表 7.4 遺伝毒性試験の概要

試験方法	被験物質	試験結果	実施施設	資料番号
エームス試験 (TA98, TA100, TA1535 , TA1537, WP2 uvrA WP2)	S-59	代謝活性化系の存在に関わらず, TA1537 株で陽性を示した. その他の株では陰性であった.	Microbiological Associates, Inc.*4	(MA 59-006) (MA 59-012) MA 59-016
エームス試験 (TA98, TA100, TA1535 , TA1537, WP2 uvrA WP2) CAD 非処理	不活化処理 済 ヒト血 小板	代謝活性化系の存在に関わらず, 全てのテスターで陰性であった	Microbiological Associates, Inc.*4	MA 59-009 MA 59-011
エームス試験 (TA98, TA100, TA1535 , TA1537, WP2 uvrA WP2) CAD 非処理	複数回の 不活化処理 済 ヒト血 小板	代謝活性化系非存在下の TA1537 株で陽性を示した. その他の株では陰性であった.	Microbiological Associates, Inc.*4	MA 59-014 MA 59-016
マウスリンフォーマ TK 試験	S-59	代謝活性化系非存在下において, 7.5 $\mu\text{g/mL}$ 以上の濃度で陽性であった. 代謝活性化系存在下において, 65 $\mu\text{g/mL}$ の濃度で陰性であった.	Microbiological Associates, Inc.*4	(MA 59-005)
マウスリンフォーマ TK 試験 CAD 非処理	不活化処理 済 ヒト血 小板	代謝活性化系非存在下及び代謝活性化系存在下においても陰性であった.	Microbiological Associates, Inc.*4	MA 59-008
染色体異常試験 (CHO 細胞)	S-59	代謝活性化系非存在下における最大無作用量の平均値は, 2 $\mu\text{g/mL}$ であった. 代謝活性化系存在下における最大無作用量の平均値は, 24 $\mu\text{g/mL}$ であった.	Microbiological Associates, Inc.*4	(MA 59-007) MA 59-015
染色体異常試験 (CHO 細胞) CAD 非処理	不活化処理 済 ヒト血 小板	代謝活性化系非存在下及び代謝活性化系存在下においても陰性であった.	Microbiological Associates, Inc.*4	MA 59-010
染色体異常試験 (CHO 細胞) CAD 非処理	複数回の 不活化処理 済 ヒト血 小板	代謝活性化系非存在下における最大無作用量の平均値は, 残留 S-59 濃度 3 $\mu\text{g/mL}$ であった. 代謝活性化系存在下における最大無作用量の平均値は, 残留 S-59 濃度 13 $\mu\text{g/mL}$ であ	Microbiological Associates, Inc.*4	MA 59-015

試験方法	被験物質	試験結果	実施施設	資料番号
UDS 試験	S-59	34mg/kg(最高投与量)において陰性であった。	Microbiological Associates, Inc.*4	(MA 59-002)
UDS 試験 CAD 非処理	不活化処理済ヒト血小板	残留 S-59 濃度 200 μg/kg, 光反応生成物濃度 800 μg/kg (最高投与量)において陰性であった。	Microbiological Associates, Inc.*4	MA 59-004
マウス小核試験	S-59	66mg/kg(最高投与量)において陰性であった。	Microbiological Associates, Inc.*4	(MA 59-001) (MA 59-013)
マウス小核試験 CAD 非処理	不活化処理済ヒト血小板	残留 S-59 濃度 200 μg/kg, 光反応生成物濃度 800 μg/kg (最高投与量)において陰性であった。	Microbiological Associates, Inc.*4	MA 59-003

() : 添付資料なし。リクエストに応じて追加。

5) 生殖毒性試験

表 7.5 生殖毒性試験の概要

試験方法	被験物質	試験結果	実施施設	資料番号
ラット 静脈内投与(雄性) CAD 処理/非処理	S-59 混合液	交配 28 日前より 25mL/kg を投与した。胎児に対する影響は観察されなかった。	Argus Research Labs*5	Argus 2319-009
ラット 静脈内投与(雌性) CAD 処理/非処理	S-59 混合液	交配 15 日前より 25mL/kg を投与した。胎児に対する影響は観察されなかった。	Argus Research Labs*5	Argus 2319-004 Argus 2319-012
ラット 静脈内投与(母体毒性と発生毒性) CAD 処理/非処理	S-59 混合液	交配後 6~17 日後に 25mL/kg を連日投与した。母体毒性及び発生毒性は観察されなかった。	Argus Research Labs*5	Argus 2319-003 Argus 2319-013
ウサギ 静脈内投与(母体毒性と発生毒性) CAD 処理	S-59 混合液	交配後 6~19 日後に 25mL/kg を連日投与した。母体毒性及び発生毒性は観察されなかった。	Argus Research Labs*5	Argus 2319-002
ラット 静脈内投与(周産期, 産後の発育異常) CAD 処理	S-59 混合液	交配後 7 から授乳期までに 25mL/kg を連日投与した。F ₀ 及び F ₁ に対する毒性は観察されなかった。	Argus Research Labs*5	Argus 2319-007

*5 : Argus Research Laboratories, Inc.

905 Sheehy Drive, Building A Horsham, PA 19044-1297, U.S.A.

表 8.1 不活化処理血小板の臨床試験の要約

試験名	試験デザイン	血小板投与方法・量	評価項目	輸血試験回数	被験者数 ^a
健常人試験					
I A 試験	ランダム化 単純盲検 クロスオーバー	放射能標識自己 血小板 (CAD 非 処理) 10ml	回復と寿命	1 (1 期間当 たり)	24
I B 試験	ランダム化 単純盲検 クロスオーバー	自己血小板 治療用量	S-59 の薬物動態	1 (1 期間当 たり)	10
II A 試験	シングルアーム I A 過去対照群	放射能標識自己 血小板 10ml	回復と寿命	1	16
II B 試験	シングルアーム I A・II A 過去対照群	放射能標識自己 血小板 γ 線照射 10ml	回復と寿命	1	15
血小板減少症患者の試験					
II C 試験 出血時間と 血小板数増加量	ランダム化 二重盲検 クロスオーバー	アフエレーシス 血小板 2 倍治療 用量 単回輸血	Template 出血時間, CI, CCI, 止血能, 輸 血間隔	1 (1 期間当 たり)	32
欧州第 III 相試験 パフィーコート 血小板	ランダム化 二重盲検 並列群	パフィーコート 血小板 治療用 量 反復輸血 8 週間まで	CI, CCI, 止血能, 血 小板数輸血回数, 赤血 球輸血回数, 輸血間 隔, 輸血反応	反復 (1 サ イクル あたり 8 週 間)	103
米国第 III 相試験 アフエレーシス 血小板	ランダム化 二重盲検 並列群	アフエレーシス 血小板 治療用 量 反復輸血 4 週間まで	Grade2 WHO 出血, Grade3/4 WHO 出 血, CI, CCI, 止血 能, 血小板輸血回数, 赤血球輸血回数, 輸血 反応	反復 (1 サ イクル あたり 4 週 間)	645
欧州第 III B 相試験 パフィーコート 血小板; 一体型セット	過去対照群 シングルアーム 一施設でのオー プンラベル	パフィーコート 血小板 治療用 量 反復輸血 4 週間まで	CI, CCI, 止血能, 血 小板数及び赤血球の 輸血回数, 輸血間隔, 輸血反応	反復 (4 週 間以上)	20 ^b
欧州第 III B 相試験 アフエレーシス 血小板; 一体型セット	ランダム化 二重盲検 並列群	アフエレーシス 血小板 治療用 量 反復輸血 4 週間まで	CI, CCI, 止血能, 血 小板輸血回数, 赤血 球輸血回数, 輸血間 隔, 輸血反応	反復 (4 週 間以上)	42

a 試験輸血を 1 回以上受けた被験者 (評価可能例) の数

b 同施設にて行われた欧州第 III 相試験の 19 例を過去対照群として利用した。

これら実施した 9 件の臨床試験いずれにおいても、血小板濃厚液を不活化処理することによって、その機能及び安全性において未処理血小板に劣る結果は得られていない。また、現在実施中の大規模ヘモビジランススタディー、小児を対象にした試験においても未処理の血小板濃厚液に有効性、安全性で劣る結果は認められていない。

Residual Risk of Bacterial Sepsis

After Bacterial Culture of Apheresis Platelets:

American Red Cross

Eder et al, 2007 (in press)

- 20 septic reactions (3 fatal)
- 1,004,000 tested products

~1:59,000

Canada

Ramírez-Arcos et al, 2007 (in press)

- 2 septic reactions (1 fatal)
- 82,004 tested products

~1:41,000

Holland

deKorte et al, Transfusion 2006

- 2 septic reactions
- 113,092 tested products

~1:56,500

Germany

Schmidt et al, Vox Sanguinis 2007

- 2 septic reactions (1 fatal)
- 11,037 products tested

~1:11,000

Impact of INTERCEPT on production

	Control period	
Apheresis instrument	5 Amicus 3 Spectra	
Apheresis procedures	2,576	
Mean yield	6.56×10^{11}	
Expiration rate	9.1%*	

*5-day shelf-life. †7-day shelf-life.

Osselaer JC. Presented at ISBT, Athens, Greece, 2005.

All Patients

18 months before and after implementation of INTERCEPT Platelets

Period	Control		Δ
Platelet transfusions	3,528		+11%
Patients receiving platelets	352		+14%
Platelet transfusions/patient	10.0		-2%
RBC transfusions	9,506		+21%
Patients receiving RBC	1703		+19%
RBC transfusions/patient	5.6		0

Osselaer JC. Presented at ISBT, Athens, Greece, 2005.

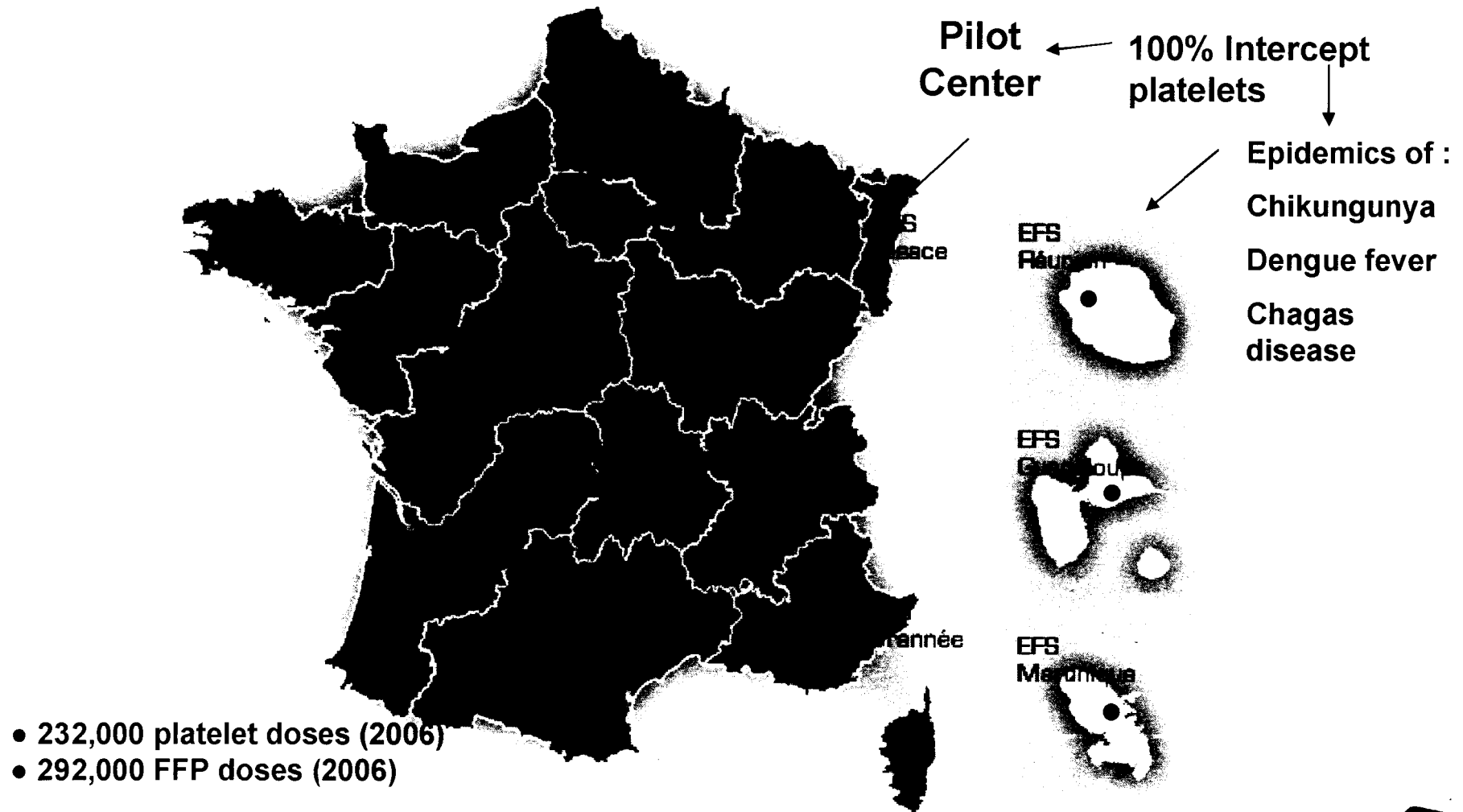
Acute transfusion reactions

- Each transfusion was assessed for acute transfusion reactions in both the control (C-PLT and C-RBC) and INTERCEPT components (I-PLT)

	Control period	
Component	C-PLT	C-RBC
Months	18	18
Transfusions	3,529	9,551
Reactions	1.3%*	0.4%

*p=0.002.

Clinical experience with INTERCEPT platelets and plasma in France



Demography of patients receiving platelet concentrates (PC) at EFS-Alsace

		PC (100% plasma) 1/1/2003 – 1/2/2004 99.6 %	PC (35% plasma+65% T-Sol) 1/9/2005 – 1/6/2006 95 %	PC INTERCEPT (35% plasma+65% Intersol) 1/9/2006 – 1/8/2007 99 %
Patients (n)		2,050	1,678	2,069
Age (yrs)	(median)	61	62	63
	(mini)	<1	<1	<1
	(maxi)	94	98	96
Sex	male	1,178 (58%)	1,035 (62%)	1,260 (61%)
	female	872 (42%)	643 (38%)	809 (39%)
Onco-hematology		56 %	51 %	58 %
Cardiovascular surgery		7 %	6 %	6 %
General medicine and surgery		37 %	43 %	36 %

Platelet concentrates (PC) transfused* at EFS-Alsace

	PC (100% plasma) 1/1/2003 – 1/2/2004 99.6 %	PC (35% plasma+65% T-Sol) 1/9/2005 – 1/6/2006 95 %	PC INTERCEPT (35% plasma+65% Intersol) 1/9/2006 – 1/8/2007 99%
Patients (n)	2,050	1,678	2,069
PC transfused (n)	10,629	9,151	13,241**
Mean / patient	5.2	5.5	6.4
Median / patient	2.0	2.0	2.0
Minimum	1	1	1
Maximum	104	114	289
Platelets x10¹¹ / patient			
Mean	26.9	24.2	27.0
Median	10.4	8.9	8.4
Minimum	0.2	0.2	0.5
Maximum	450	445	1,149

* Ratio LR-BCPC/LR-APC : 62/38 - ** 21% : 1 PC ; 24% : 2 PC ; 20% : 3-5 PC ; 23% : 6-50 PC

Adverse transfusion reactions during platelet concentrates (PC) transfused at EFS-Alsace

	(1) PC (100% plasma) 1/1/2003 – 1/2/2004 99.6 %	(2) PC (35% plasma+65% T-Sol) 1/9/2005 – 1/6/2006 95 %	(3) PC INTERCEPT (35% plasma+65% Intersol) 1/9/2006 – 1/8/2007 99 %
Patients (n)	59	33	36
Adverse reactions (n)	67 (11 RBC Imm)	41 (16 RBC Imm)	37* (19 RBC Imm)
Adverse reactions/1000 PC (n)	5.3	2.7	1.4
Patients with reactions	2.9 %	2 %	1.7 %

~~Period 3 : *Fever/chills : 8 ; allergy : 3 ; TRALI : 1 ; RBC immunisations : 19~~

Period 1 : 1 death volume overload (2 RBCC + 2 BCPC)

All 3 periods : No bacterial sepsis

All 3 periods : 145 adverse reactions : SEVERITY grade 1 = 61 %; grade 2 = 33 % (46 RBC immunisations)

BioOne Corporation
IMPUTABILITY grade 2, 3, 4 = 87 %; grade 3 and 4 = 70 %

Red blood cell concentrates (RBCC) transfused to patients receiving PC at EFS-Alsace

	PC (100% plasma) 1/1/2003 – 1/2/2004 99.6 %	PC (35% plasma+65% T-Sol) 1/9/2005 – 1/6/2006 95 %	PC INTERCEPT (35% plasma+65% Intersol) 1/9/2006 – 1/8/2007 99%
Patients 1 PC + 1 RBCC (n)	1,715 (83.7%)	1,395 (83.1%)	1,763 (85.2%)
RBCC (n)	24,691	17,873	23,886
Mean / patient	14.4	12.8	13.5
Minimum	1	1	1
Maximum	128	155	307
PC transfused (n)	9,953	8,553	12,626
Mean / patient	5.8	6.1	7.2
Minimum	1	1	1
Maximum	104	114	289

EFS-La Réunion : acute reactions following transfusions of INTERCEPT treated APC

(M F Angelini-Tibert and P. Rasongles)

Patient Group	Period	INTERCEPT APC transfused	Reactions per 1000 APC
All Patients	1/2005-12/2005	1194	92.0
Pediatric	1/2005-12/2005	366	218.0
All Patients	3/2006-3/2007	1948	9.8
Adults	3/2006-3/2007	1370	4.4
Pediatric	3/2006-3/2007	489	26.6
Infants	3/2006-3/2007	89	0

EF3-La Reunion : Adverse reactions with INTERCEPT treated Apheresis PC

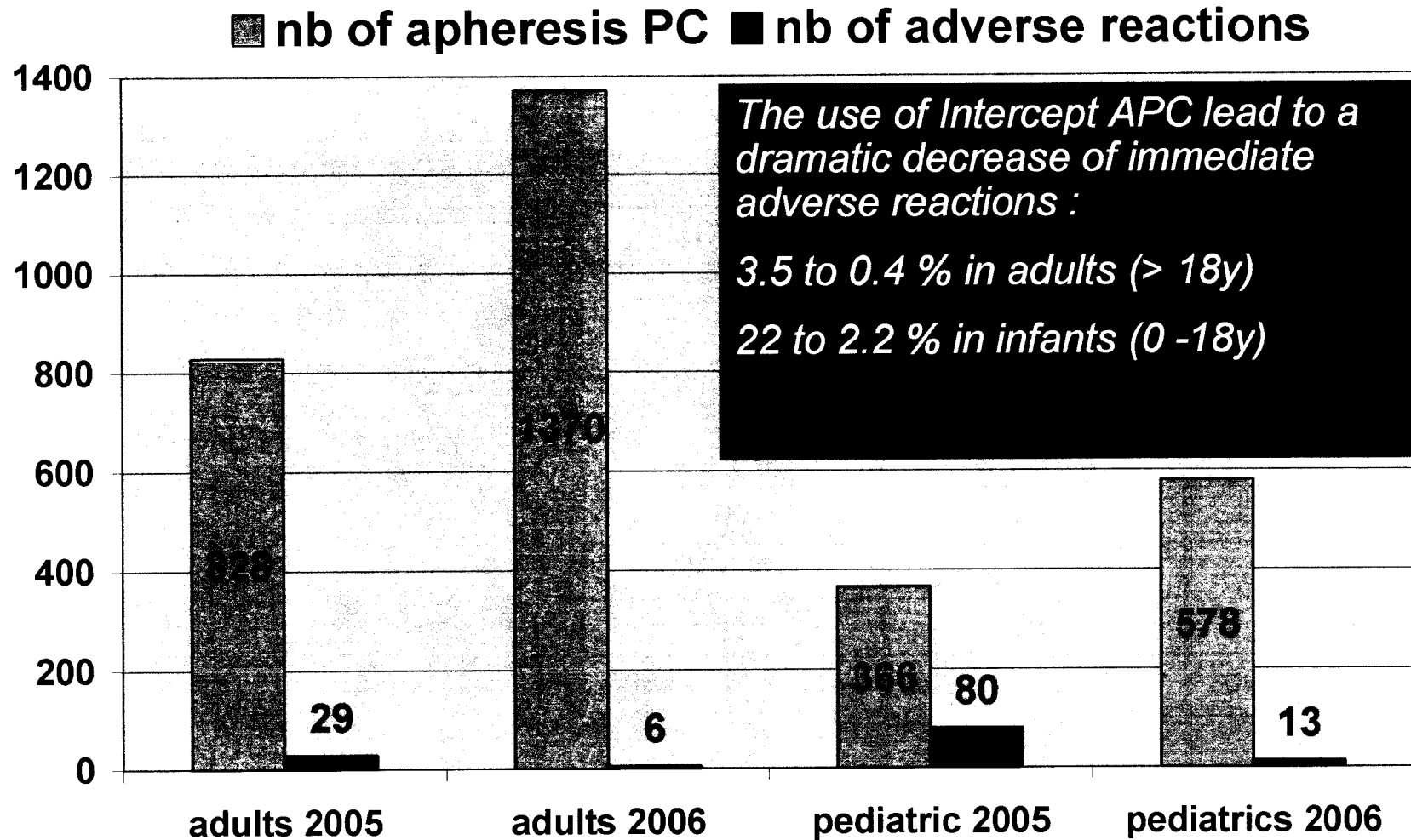
-1

(M F Angelini-Tibert and P. Rasongles)

year	2005	2006/3 - 2007/3
nb of patients	NA	427
nb of apheresis PC	1194	1948
nb of adverse reactions	109	19
Adverse reactions / 1000 APC	91,3	9,8

EFS-La Réunion : Adverse reactions with Intercept treated Apheresis PC -2

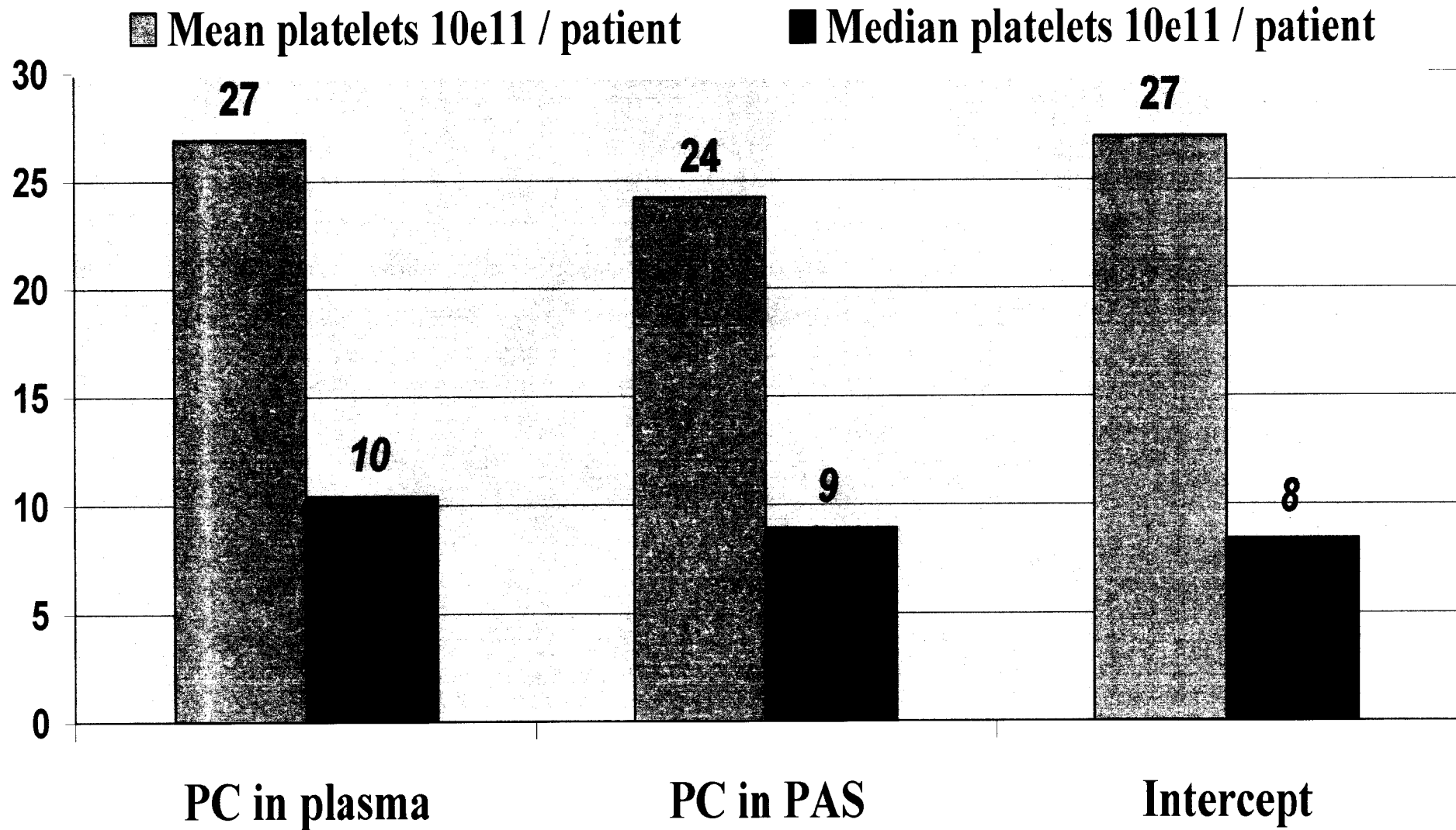
(M F Angelini-Tibert and P. Rasongles)



Clinical experience of Intercept at EFS Alsace-1

Intercept implementation	PC in plasma	PC in PAS	Intercept
	2003 /1 to 2004 /1	2005 /9 to 2006 /6	2006 /9 to 2007 /8
date			
nb of months	13	10	12
nb of patients	2 050	1 678	2 069
median age	61	62	63
Male / female	58 / 42	62 / 38	61 / 39
onco-hematology	56%	51%	58%
cardio vascular surgery	7%	6%	6%
other	37%	43%	36%
nb of PC delivered (APC/RPC=40/60)	10 629	9 151	13 241
Mean PC / patient	5,2	5,5	6,4
Median PC / patient	2,0	2,0	2,0
Mean platelets 10 ¹¹ / patient	26,9	24,2	27,0
Median platelets 10 ¹¹ / patient	10,4	8,9	8,4
Mean RCC / patient	14,4	12,8	13,5

Clinical experience of Intercept at EFS Alsace-2

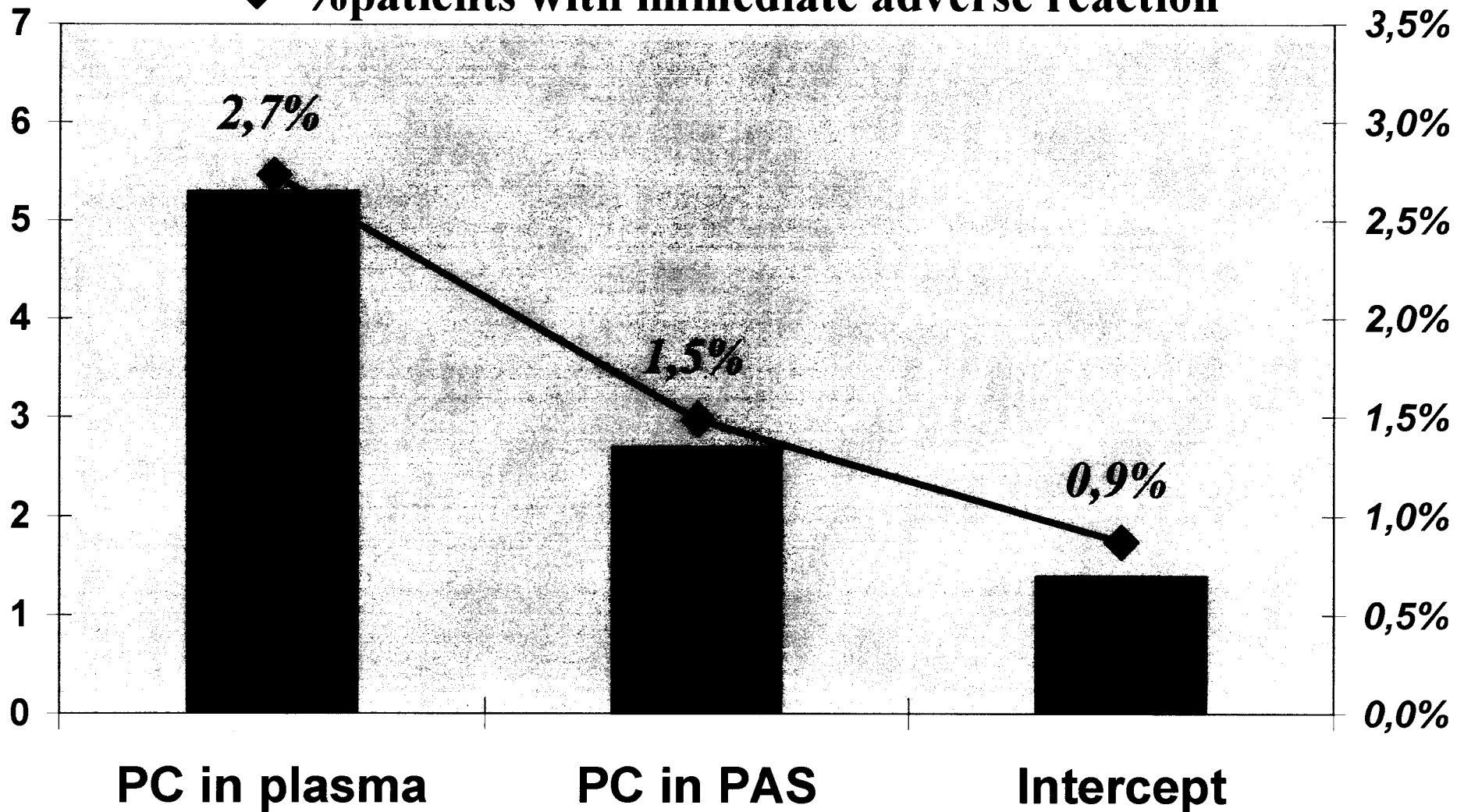


Clinical experience of Intercept at EFS

Abstract 2

■ nb immediate adverse reactions / 1 000 PC

◆ %patients with immediate adverse reaction



諸外国における感染因子不活化技術(S/D処理、メチレンブルー・リボフラビン・アモトサレン)の製造承認及び導入の状況

血漿の不活化については、欧州においてメチレンブルーを中心として、導入が進んでいる国もあるが、全ての血漿製剤に不活化を実施しているのは、ごく一部の国である。またこれらの国においては、有償採血であることや、輸血用血漿製剤の使用量が我が国と比較して、1/3~2/3と少ないなど、実施しやすい状況がある。一方、血小板の不活化については、感染症が蔓延している地域における導入や国によっては一部試行的に導入しているところもあるが、様々な技術が開発されているところであり、一つの技術を全国的に導入すると決定している国は今のところないと聞いている。また、多くの感染症が蔓延している国においては、NATなど高額な検査を実施できない場合もあり、広範な病原体に対して有効な不活化技術のみ導入しようとする場合もある。

	資料の種類	製造承認の有無	導入状況	備考
米国	2008.2.27 部会内容	不活化技術に対する承認はない	導入を検討中	様々な血液銀行による有償採血であるので、採血量の増加にも対応が可能。血漿に対する不活化技術の導入の動向はない。新興・輸入感染症と血小板製剤に多発する細菌感染の対策として、血小板の不活化の導入を検討中。不活化血小板の承認申請審査中。千人当りの血漿使用量は日本の3分の2程度。
フランス	2008.2.27 部会資料記述	メチレンブルーによる血漿の不活化 アモトサレンによる血小板の不活化	血漿に対しては、60%がプールした後にS/D処理、40%がメチレンブルーにより不活化処理をされている。 血小板に対する不活化については、インド洋、カリブ諸島、南米の3つの海外圏や本国の5センターでアモトサレンやリボフラビンによる処理を導入している。	フランス血液機構は、献血により採血している。熱帯地域の海外圏における感染症発生のリスクがあり、その影響で本国においても、血漿や血小板の不活化対策に取組む必要性が高い。千人当りの血漿使用量は日本の3分の1程度。
ドイツ	2008.2.27 部会資料記述	メチレンブルーによる血漿の不活化 アモトサレンによる血小板の不活化	血漿に対しては、本年1月からメチレンブルーによる不活化製剤を供給。 血小板の不活化については、未導入。	ドイツ赤十字が輸血の8割を実施。血小板の不活化として、ドイツ赤十字はアモトサレンの使用はしておらず、薬剤を用いない不活化技術(UVC)を開発中。アモトサレンを評価する計画もある。ドイツの血漿は、有償採血のため、採血量の増加にも対応が可能。千人当たりの血漿使用量は日本とほぼ同じ。
イギリス	2008.2.27 部会資料記述	メチレンブルーによる血漿の不活化	血漿については、小児を対象に、メチレンブルーによる不活化製剤を供給。 血小板に対する導入は行っていない。	英国の国営血液サービスは、米国で有償で採血された血漿を輸入している。感染症のリスクを考慮して、1996年以降に誕生した子供の輸血に使用するには、メチレンブルーによる不活化を実施している。千人当りの血漿使用量は日本の2分の1程度。
ベルギー	2008.2.27 部会資料記述	メチレンブルーによる血漿の不活化	2004年にメチレンブルーによる血漿の不活化を導入	アモトサレン及びリボフラビンによる血小板の評価試験中 アモトサレン承認申請中
ルクセンブルグ	2008.2.27 部会資料記述	メチレンブルーによる血漿の不活化	メチレンブルーによる血漿の不活化を導入	
カナダ	2008.2.27 部会資料記述	不活化技術に対する承認はない	未導入	メチレンブルー不活化血漿の導入を検討中
スイス	2008.2.27 部会資料記述	不活化技術に対する承認はない	今年から、25%の血漿に対してSD処理をして供給 血小板については未導入	アモトサレンによる血小板不活化承認申請中
オランダ	2008.2.27 部会資料記述	不活化技術に対する承認はない	未導入	
ノルウェー	2008.2.27 部会資料記述	アモトサレンによる血小板の不活化	一部の血液センター・院内血液銀行でのみ導入	
スペイン	2008.2.27 部会資料記述	メチレンブルーによる血漿の不活化 アモトサレンによる血小板の不活化	一部の血液センターでのみ導入	
イタリア	2008.2.27 部会資料記述	メチレンブルーによる血漿の不活化 アモトサレンによる血小板の不活化	一部の血液センターでのみ導入	
ギリシャ	2008.2.27 部会資料記述	メチレンブルーによる血漿の不活化	一部の血液センターでのみ導入	
ロシア	2008.2.27 部会資料記述	メチレンブルーによる血漿の不活化	一部の血液センターでのみ導入	モスクワ市内の血液センターで導入
マレーシア	2008.2.27 部会資料記述	アモトサレンによる血小板の不活化	一部センターで小児対象に導入	

諸外国における感染因子不活化技術(S/D処理、メチレンブルー・リボフラビン・アモトサレン)の製造承認及び導入の状況

血漿の不活化については、欧州においてメチレンブルーを中心として、導入が進んでいる国もあるが、全ての血漿製剤に不活化を実施しているのは、ごく一部の国である。

またこれらの国においては、有償採血であることや、輸血用血漿製剤の使用量が我が国と比較して、1/3~2/3と少ないなど、実施しやすい状況がある。

一方、血小板の不活化については、感染症が蔓延している地域における導入や国によっては一部試行的に導入しているところもあるが、様々な技術が開発されているところであり、一つの技術を全国的に導入すると決定している国は今のところないと聞いている。

また、多くの感染症が蔓延している国においては、NATなど高額な検査を実施できない場合もあり、広範な病原体に対して有効な不活化技術のみ導入しようとする場合もある。

	資料の種類	製造承認の有無	導入状況	備考
シンガポール	2008.2.27部会資料記述	メチレンブルーによる血漿の不活化	一部でのみ導入	アモトサレン評価試験中
韓国	2008.2.27部会資料記述	不活化技術に対する承認はない	未導入	
中国				
オーストリア				
スウェーデン				
アイルランド				
スロベニア				
チェコ				
クエート				

1. 感染因子不活化効果



1) 論文報告(各開発メーカー資料)による評価の概要

不活化技術 感染因子		メチレンブルー	リボフラボン	アモトサレン	アモトサレン最新報告
		血漿	血小板	血小板	血小板
ウイルス	HIV	>5.5	>4.4	>6.0	>6.0
	HBV	>4.9	—	>5.5	>5.5
	HCV	>6.2(BVDV)	—	>4.5	>4.5
	HPV B9	>4.0	—	—	—
	WNV	>6.5	>5.1	—	—
	SARS	—	—	—	—
	HAV	0	—	—	—
細菌	S.epidermidis	—	>4.1	>6.6	>6.6
	S.aureus	—	>3.5	>6.5	>6.6
	MRSA	—	>4.9	—	—
	Y. Enterocolitica	—	—	>5.9	>5.9
原虫	T.Pallidum	—	—	>6.8	>6.8
	Leishjmania	—	>5.0	>5.2	>5.2
	P.falciparum	—	—	>7.0	>7.0
	T.cruzi	—	—	>5.3	>5.3

— : データなし

THERAFLEX UV PLATELETS: NOTHING BUT UVC LIGHT AND STRONG AGITATION

H. Mohr¹, U. Gravemann¹, F. Tolksdorf², W.H. Walker², T.H. Müller¹

Purpose

Blood donations may not only be contaminated with viruses, e.g. HBV, HCV or HIV. In addition, they may contain bacteria. This is especially crucial for platelet concentrates (PCs), because they have to be stored at room temperature, at which bacteria can multiply to high levels [1-2].

Short-wave ultraviolet light (UVC, wavelength range: 200-280 nm) is germicidal, but low UV-permeability hampers its use for sterilizing PCs. A simple method was developed which overcomes this limitation.

Materials and Methods

Plasma-reduced PCs in storage medium SSP+ (volume approx. 350 mL, platelet concentration approx. 10⁹/mL, plasma content 30-35%) were prepared from pools of 5 buffy coats [3]. PC volume was approx. 350 mL. The PCs were spiked with approx. 10²-10⁶ CFU/mL of different bacteria species or up to 10⁷ TCID₅₀/mL of lipid-enveloped or nonenveloped viruses. Other PCs were spiked with 5x10⁶/mL peripheral blood mononuclear cells (PBMC). The PCs were filled into UV-transparent plastic bags and irradiated on a device (Fig.1), equipped with mercury vapour tubes emitting monochromatic UVC-light (wavelength: 254 nm). The device was equipped with an orbital agitator. Irradiation was from both sides of the bags. UVC doses applied were up to 0.6 J/cm² (approx. 90 sec). During treatment the PCs were strongly agitated. Bacteria or virus titers, PBMC viability and platelet parameters were determined before and after irradiation. Each experiment was repeated 3-6 times. Results are depicted as mean ± SD.

Results

Pathogen inactivation was enormously enhanced when the PCs were loosely placed on a quartz plate located between the two layers of UVC tubes of the irradiation device and, in addition, strongly agitated during irradiation (Fig. 2).

UVC-light at 0.3-0.4 J/cm² (irradiation time: approx. 1 min) reduced the titers of all bacteria tested by approx. 5-6 log₁₀ steps. PCs spiked with approx. 100 CFU/ml of bacteria were reproducibly sterilized (Tab.1). In one experiment with *B. cereus* the PC was sterile after 3 but unsterile after 6 days storage. This was probably due to spores of *B. cereus* that are more resistant to UVC than vegetative bacteria.

UVC sensitivity of the viruses tested was not so uniform (Table 1): The small single stranded RNA viruses VSV, Sindbis and WNV were completely inactivated at approx. 0.3-0.4 J/cm². Remarkably HIV-1 (also a small single-stranded RNA virus) was only moderately inactivated at UVC doses up to 0.6 J/cm².

The small nonenveloped DNA viruses PPV and EMCV proved to be very sensitive. Complete inactivation was achieved at 0.4-0.5 J/cm².

With the exception of HIV-1, SHV-1 was more resistant than the other viruses tested. This confirms that in general large double stranded DNA viruses are not as susceptible to UVC as smaller single stranded DNA or RNA viruses.

PBMC proved to be extremely sensitive to UVC irradiation: Complete inactivation was found at less than 0.1 J/cm² (Fig. 3)

PC properties remained almost unchanged at doses up to 0.6 J/cm². The storage stability of the treated PCs for up to 6 days after treatment (8 days after blood donation) was maintained (Table 2)

Conclusions

Irradiation with UVC under strong agitation may be used to sterilize platelet concentrates at a light dose that is not harmful to the products. The UVC dose required is 0.4 J/cm². Irradiation time is not more than approx. 1 min.

Parameter	Day 1 after irradiation				Day 6 after irradiation			
	Control	UVC dose (J/cm ²)			Control	UVC dose (J/cm ²)		
		0.4	0.8	0.6		0.4	0.5	0.6
Plt (x10 ⁹ /mL)	16.8 ± 0.6	16.2 ± 0.6	9.8 ± 0.8	8.1 ± 0.9	10.1 ± 0.8	9.8 ± 0.8	9.3 ± 0.8	9.3 ± 0.5
pH	7.16 ± 0.04	7.04 ± 0.05	7.09 ± 0.05	7.06 ± 0.04	7.27 ± 0.15	7.06 ± 0.06	7.11 ± 0.10	6.99 ± 0.07
Lactate (mmol/L)	7.7 ± 1.0	8.8 ± 0.5	7.7 ± 0.5	8.8 ± 0.7	12.7 ± 1.0	14.9 ± 1.0	14.6 ± 1.4	16.7 ± 1.4
Glucose (mg/dL)	122 ± 9	117 ± 7	117 ± 9	118 ± 7	62 ± 11	45 ± 8	44 ± 11	28 ± 10
Swirling	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok
HSR [%]	66 ± 5	66 ± 2	61 ± 6	63 ± 4	66 ± 2	66 ± 2	63 ± 3	66 ± 6
Collagen-induced aggregation [%]	95 ± 4	90 ± 5	86 ± 3	87 ± 2	82 ± 9	69 ± 8	87 ± 2	69 ± 8
CD62 [%]	36 ± 1	46 ± 3	47 ± 2	46 ± 1	28 ± 1	46 ± 8	26 ± 10	37 ± 6
Annexin V [%]	8 ± 1	8 ± 2	7 ± 4	7 ± 4	9 ± 6	9 ± 2	16 ± 2	12 ± 3

Tab. 3: Treatment of PCs with different UVC doses. Influence on platelet parameters and on storage stability. n=6, mean ± SD

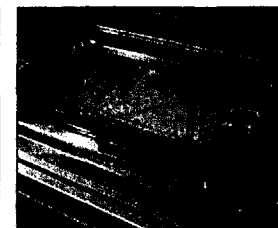
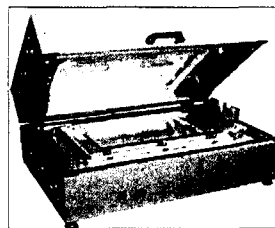


Fig. 1: Irradiation device for UVC treatment of PCs

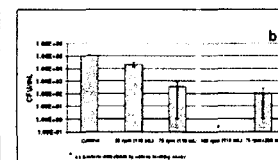
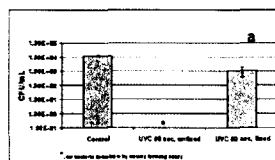


Fig. 2: Inactivation of *St. epidermidis* in PC aliquots (110 or 280 mL) by irradiation with UV light: fixed vs. loosely placed irradiation bags (a); dependence of bacteria inactivation in loosely placed irradiation bags on the agitation speed (b). n=3, mean ± SD

Bacteria species	Characteristics	Gram stain	Number pl experiments	Spike (CFU/mL)	Bact/Alert result*	Remark
<i>B. cereus</i>	fac. anaerobic	pos	12	100-140	11 sterile 1 unsterile**	Spore former
<i>E. coli</i>	aerobic	neg	12	36-65	12 sterile	
<i>K. pneumoniae</i>	fac. anaerobic	neg	12	85-140	12 sterile	
<i>P. aeruginosa</i>	anaerobic	neg	12	61-100	12 sterile	
<i>S. aureus</i>	fac. anaerobic	pos	22	60-110	22 sterile	
<i>S. epidermidis</i>	fac. anaerobic	pos	22	74-210	22 sterile	
<i>Str. pyogenes</i>	fac. anaerobic	pos	12	118-194	12 sterile	

*: Samples (2x10 mL each) were drawn after 3 and 6 days at 22°C
**: sterile after 3 days storage

Tab 1: Sterilization of PCs spiked with different bacteria species by irradiation with UVC (0.4 J/cm²)

Virus	Genome	Lipid Envelope	Model virus for	Log ₁₀ reduction factor
Vesicular stomatitis (VSV)	ss ⁺ RNA	X	-	≥ 6.41
Sindbis (Sindbis)	ss RNA	X	-	5.55
West Nile (WNV)	ss RNA	X	HCV	5.24
Human immunodeficiency (HIV-1)	ss RNA	X	-	1.36
Shed Herpes (SHV-1)	ds ⁺ DNA	X	HBV/CMV	3.57
Porcine Parvo (PPV)	ss DNA	-	Parvo B 19	≥ 6.42
Encephalomyocarditis (EMCV)	ss DNA	-	HAV	5.73

Tab 2: Inactivation factors of viruses by irradiation with UVC (0.4 J/cm²)

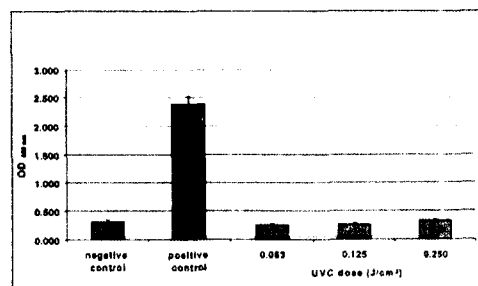


Fig. 3: Inactivation of T-lymphocytes in platelet concentrates by irradiation with UVC. Viability was assayed by mixed lymphocyte culture.

References

- Wagner BJ. Transfusion-transmitted bacterial infection: risks, sources and interventions. Vox Sang 2004;88(3):187-92.
- Mohr H, Beyer A, Gravemann U, Müller TH. Elimination and multiplication of bacteria during preparation and storage of buffy coat-derived platelet concentrates. Transfusion 2006;46(1):349-56.
- Eriksson L, Sharwell A, Gulliksson H, et al. Platelet concentrates in an additive solution prepared from pooled buffy coats. In vivo studies. Vox Sang 1993;64(3):133-8

¹ + Blood Center of the German Red Cross Chapters of NSTOB, Springe, Germany

² MacoPharma Int., Langen, Germany

Supported by Forschungsgemeinschaft der Blutspendedienste des Deutschen Roten Kreuzes e.V.

不活化効果試験の assay methods

	Pathogen	abbreviation	assay method (after illumination)	cell or animal used on the assay	initiation date	completion date	study period (days)	report number
virus	Duck Hepatitis B virus	DHBV	in vivo assay (DNA hybridization assay)	Legarth Pekin hybrid duckling	1994/10/3	1995/2/3	124	DEL 001
bacteria	Staphylococcus epidermidis		agar plate assay and liquid broth assay		1994/9/2	1995/2/13	165	DEL 002
bacteria	Klebsiella pneumoniae		agar plate assay and liquid broth assay		1994/9/2	1995/2/13	165	DEL 002
virus	Human Immunodeficiency Virus-1 (Cell associated)	HIV-1	plaque assay	MT-2 cell	1994/9/21	1995/2/18	151	DEL 004
virus	Human Immunodeficiency Virus-1 (Cell Free)	HIV-1	plaque assay	MT-2 cell	1994/9/21	1995/2/18	151	DEL 005
virus	Bovine Viral Diarrhea Virus	BVDV	plaque assay	bovine turbinate (BT) cell	1994/11/28	1995/2/24	89	DEL 006
bacteria	Pseudomonas Aeruginosa		liquid broth assay		1995/2/27	1995/6/30	124	DEL 010
bacteria	Serratia Marcescens		agar plate assay and liquid broth assay		1995/7/21	1995/9/7	49	DEL 011
WBC	T-Cell		limiting dilution analysis (LDA)		1995/8/21	1995/12/7	109	DEL 012
bacteria	Salmonella Choleraeuis		agar plate assay		1995/10/3	1996/1/15	105	DEL 016
virus	Human Cytomegalovirus (Cell associated)	CMV	plaque assay	MRC-5 cell	1996/1/16	1996/5/13	119	DEL 021
bacteria	Staphylococcus Aureus		agar plate assay and liquid broth assay		1995/11/30	1996/4/13	136	DEL 022
bacteria	Escherichia Coli		agar plate assay and liquid broth assay		1996/1/31	1996/4/24	85	DEL 023
bacteria	Yersinia Enterocolitica		agar plate assay		1996/3/15	1996/8/21	160	DEL 025
bacteria	Enterobacter Cloacae		agar plate assay and liquid broth assay		1996/5/6	1996/8/26	113	DEL 031
bacteria	Listeria Monocytogenes		liquid broth assay		1996/7/9	1996/8/8	31	DEL 032
bacteria	Corynebacterium Minutissimum		liquid broth assay		1996/7/9	1996/9/19	73	DEL 033
bacteria	Streptococcus Pyogenes		liquid broth assay		1996/7/12	1996/9/19	70	DEL 042
番外	TA-GVHD			mice	1996/9/5	1997/2/18	167	DEL 049
bacteria	Bacillus Cereus		liquid broth assay		1997/1/31	1997/4/18	78	DEL 061
virus	Bluetongue virus (Cell Free)	BV	plaque assay	bovine turbinate (BT) cell	1998/8/27	1999/10/27	427	DEL 088
virus	Feline Conjunctivitis virus (Calicivirus) (Cell Free)		plaque assay	Crandell Feline Kidney (CrFK) cell	1998/8/31	2000/11/8	801	DEL 089
virus	Simian Adenovirus (Cell Free)	SV15	evaluated for the presence or absence of cytopathic effect with the aid of a microscope	Fetal rhesus kidney (FRhK) cell	1998/11/2	2000/11/17	747	DEL 090
virus	Hepatitis B virus	HBV	in vivo assay (PCR, biopsy etc)	Chimpanzee	1997/9/10	2000/3/16	919	IACUC173
virus	Hepatitis C virus	HCV	in vivo assay (PCR, biopsy etc)	Chimpanzee	1997/9/10	2000/3/16	919	IACUC173
virus	Clinical isolated Human Immunodeficiency Virus-1 (Z84 strain)	HIV-1	Mg ⁺⁺ -dependent [³² P]dTTP reverse transcriptase assay and P24 assay	PBMC	1996/2/16	1996/5/16	91	CP 1472
virus	Clinical isolated Human Immunodeficiency Virus-2 (CBL20 strain)	HIV-2	Mg ⁺⁺ -dependent [³² P]dTTP reverse transcriptase assay and P24 assay	PBMC	1996/2/22	1996/5/16	85	CP 1473
bacteria	Lactobacillus Species		agar plate assay		2001/12/3	2002/3/29	117	DEL 224
bacteria	Bifidobacterium Adolescentis		agar plate assay		2001/12/5	2002/3/29	115	DEL 225
bacteria	Propionibacterium Acnes		agar plate assay		2002/1/17	2002/5/17	121	DEL-R 00228
bacteria	Clostridium Perfringens		agar plate assay		2002/3/25	2002/10/4	194	DEL-R 00237
parasite	Trypanosoma cruzi	T. cruzi	microscopically monitoring	3T3 cell	2000/10/24	2002/4/25	549	REL 00218
parasite	Plasmodium falciparum		microscopically monitoring (smear with staining)	RBC	2001/5/21	2002/5/6	351	REL 00220
virus	Human T-cell Lymphotropic virus type I	HTLV-I	microscopically monitoring (the staining resulting from tax protein produced as a result of infection)	BHK21pA18G indicator cell line	2000/11/17	2002/4/29	529	REEL 00225-1
virus	Human T-cell Lymphotropic virus type II	HTLV-II	microscopically monitoring (the staining resulting from tax protein produced as a result of infection)	BHK21pA18G indicator cell line	2000/11/17	2002/4/29	529	REL 00225-2
spirochete	Treponema pallidum		intradermal infectivity assay (observation), intratesticular infectivity assay (VDRL and FTA-ABS assay)	37 ¹ New Zealand rabbit	2000/8/4	2002/4/26	631	REL-R 217