

薬事・食品衛生審議会  
平成20年度 第2回 血液事業部会運営委員会

議事次第

日時：平成20年7月15日（火）

15：00～17：00

場所：弘済会館 菊、梅（西）

東京都千代田区麹町5-1（4F）

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

配付資料：

- 資料 1 平成20年度第1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 血液事業本部のこの一年（平成19年度）の取組について（日本赤十字社提出資料）
- 資料5-1 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（7月11日公表）
- 資料5-2 フィブリノゲン製剤をフィブリン糊として使用した可能性のある医療機関の追加について（平成20年6月13日公表）
- 資料5-3 フィブリノゲン製剤等に関する相談窓口について（平成20年6月27日公表）
- 資料5-4 C型肝炎訴訟の和解について（平成20年7月10日公表）

- 資料5-5 田辺三菱製薬株式会社におけるフィブリノゲン製剤に係る418症例報告調査プロジェクトチームの活動状況等及びフィブリノゲン製剤等の投与を受けた方の特定につながる資料の提供結果について（平成20年7月8日公表）
- 資料5-6 田辺三菱製薬株式会社等における個人情報の開示請求への対応等について（平成20年6月25日公表）
- 資料5-7 フィブリノゲン製剤投与後の418例の肝炎等発症患者の症状等に関する調査検討会調査報告書の概要（平成20年6月27日公表）
- 資料5-8 血液凝固因子製剤の納入先医療機関名等の公表について（平成20年7月1日公表）
- 資料5-9 血液凝固因子製剤の納入先医療機関の調査結果について（平成20年7月1日公表）
- 資料5-10 血液凝固因子製剤の納入先医療機関の調査について（平成20年7月11日公表）

平成20年度第1回血液事業部会運営委員会議事要旨(案)

日時: 平成20年5月21日(水) 10:00~12:20

場所: 弘済会館 菊(東)、梅(中・西)

出席者: 高松委員長、

大平、岡田、高橋、花井、山口各委員

(事務局)

新村血液対策課長、植村血液対策企画官、秋野課長補佐他

(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

- 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、エイズ動向委員会の資料について説明後、下記のような意見が出された。

- 大阪府において、献血者におけるHIV陽性率が増加しているが、これは、大阪ではハイリスク集団が委託検査に来づらい状況にあることが原因ではないか。HIVの陽性率は地域によって温度差があるが、地方自治体も現状をきちんと認識して、できる限り陽性率を下げるべき。

#### 議題4について

日赤から、平成19年11月14日開催運営員会報告事項の続報として、遡及対象製剤の処理にかかる過誤について報告がなされた後、質疑応答がなされた。

#### 議題5について

事務局から、議題その他としてフィブリノゲン製剤に関する広報等について報告後、質疑応答がなされた。

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「感染症的報告について(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20年7月15日)

平成19年3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20年3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の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(2008/3/1~2008/5/31)

血対ID	受理日	番号	感染症(PT)	出典	概要	新出文献No.
80033	2008/03/18	71045	A型肝炎	第55回日本ウイルス学会学術集会 2P213	遺伝子型の異なる複数のHAV細胞馴化株における加熱や加圧による不活化効果を検討した。25%アルブミン存在下60°C10時間加熱処理または室温下300~420MPaの1分間加圧3サイクルに対し、HAV細胞馴化株間で不活化効果に差が見られた。Validation試験に使用する株として、加熱や加圧で不活化されにくく細胞で良く増殖するKRM238が適切と考えられた。血液製剤の製造工程に新規不活化法を導入する場合にはValidation試験に使用する株を適切に選定する必要がある。	
80100	2008/05/30	80207	BSE	OIE/World animal health situation 2008年3月31日	1989年から2008年3月までに、英国以外の世界各国から国際獣疫事務局(OIE)に報告された畜牛におけるBSE症例数である。2006年は、スペイン68頭、アイルランド41頭、ポルトガル33頭、ドイツ16頭、日本およびポーランド10頭、フランス8頭、イタリア7頭、スイスおよびカナダ5頭、チェコ3頭、オーストリア、ベルギーおよびオランダ2頭、スロベニア、スウェーデンおよび米国1頭である。2008年には、これまでにカナダ1頭、アイルランド6頭が報告されている。	1
80100	2008/05/30	80207	BSE	OIE/World animal health situation 2008年4月17日	2008年3月までに、英国から国際獣疫事務局(OIE)に報告されたBSE数である。1987年以前は英国全体で446頭であったが、1992年には37280頭となった。その後、減少し、2007年には67頭となった。2008年は3月31までに10頭報告されている。	2
80054	2008/04/11	80053	B型肝炎	Transfusion 2008; 48: 286-294	最小感染量を求めるために、遺伝型Aまたは遺伝型CのHBVを含む急性期前の接種株をチンパンジーに接種したところ、最小50%チンパンジー感染量(CID50)は各々約10コピーと推定された。最低感染量を接種したチンパンジーにおけるHBV DNA ウィンドウ期は遺伝型Aでは55-76日、遺伝型Cでは35-50日、HBs Ag ウィンドウ期は遺伝型Aでは69-97日、遺伝型Cでは50-64日であった。またHBV DNAダプリングタイムは遺伝型Cの方が遺伝型Aに比べ有意に短かった。	3
80077	2008/04/25	80124	B型肝炎	Vox Sanguinis 2008 Epub ahead of print	1999年に核酸増幅検査(NAT)によるHBV DNA検出のための最初のWHO国際標準品(サンプル1)が樹立された。同じ血漿から調整され、長期保存された別のDNA検体(サンプル2)およびサンプル1の力価および安定性を多施設で評価した。両サンプルの力価に有意差はなく、凍結乾燥により保存されたHBV DNAが極めて安定であることが確認された。これを受け、WHOは2006年10月にサンプル2を第2の国際標準品として樹立した。	4
80045	2008/03/25	71075	B型肝炎	第31回日本血液事業学会総会 2007年10月3-5日	平成19年3月、輸血によるHBV感染が疑われるとの報告が千葉県赤十字血液センターにあった。因果関係の確認のために実施した当該輸血用血液製剤に係る保管検体個別NATは陰性であり、献血者追跡調査を行った。1名の献血者が平成19年1月にB型肝炎を発症したとの情報が得られ、調べたところ、献血者のHBV-DNAは患者のそれと塩基配列が一致した。20プールNAT陰性、HBV保管検体個別NAT陰性であったが、献血者追跡調査により輸血用血液製剤からのHBV感染が示唆された症例であった。	
80045	2008/03/25	71075	B型肝炎	第31回日本血液事業学会総会 2007年10月3-5日 一般演題51	2004年8月よりNATスクリーニングのプールサイズを50から20に縮小した。大阪府赤十字血液センターで検出されたHBV-NAT陽性事例81人を基にプールサイズ縮小の効果等について解析を行った。プールサイズ縮小後に100コピー未満/mLのHBV-NAT陽性者の比率が高くなっていることから、縮小による効果があると思われた。追跡調査、遡及調査及び医師の面談等による総合的な解析によりHBV低濃度キャリアが疑われる献血者がプールサイズ縮小後に多く検出されていることが推察された。	
80059	2008/04/22	80083	B型肝炎	第37回 日本肝臓学会西部会 2007年12月7-8日、肝臓 2007; 48(Suppl 3): A522	輸血によりHBs抗体エスケープ変異株に感染し、肝炎を発症した40歳代女性の症例報告である。献血者、受血者の塩基配列の解析を行って感染が証明された。核酸増幅検査を含む献血者のスクリーニングを行っているにもかかわらず、本邦では年間10-20例のHBV感染が報告されている。その原因の一つがHBs抗体エスケープ変異株であるが、本症例のように献血者、受血者ともに塩基配列の解析を行い感染が証明された例はきわめて稀である。	5
80045	2008/03/25	71075	C型肝炎	American Society for the Study of Liver Diseases 2007年11月2-6日	慢性HCV感染患者1930名(感染群)とHCV陰性患者1941名(対照群)とを比較し、リスク因子を検討した。静注薬物使用、1992年以前の輸血および2つ以上の入れ墨は感染群の方が対照群より有意に高かった。入れ墨はHCV感染リスク要因のない患者群においてもHCV感染と強く関連していた。	6

血対ID	受理日	番号	感染症(PT)	出典	概要	新出文献No.
80066	2008/04/23	80093	C型肝炎	Clin Vaccine Immunol published online doi:10.1128	抗HCV抗体陰性で、肝組織中のHCV RNA検出により潜在性HCV感染と診断された110例の患者由来の血清中のGOR抗体反応性を調べた。抗GOR IgG陽性患者は22例(20%)で、慢性C型肝炎患者での陽性率(70/110、63.6%)に比べ有意に低かった。HCVに無関係の肝疾患患者120例では抗GOR IgGは全く検出されなかった。市販の検査でHCV特異抗体を検出できず、血清中HCV RNAが検出できない患者で抗GOR IgG検査を行う事は、肝生検なしで潜在性HCV感染を同定する手助けとなりうる。	
80045	2008/03/25	71075	C型肝炎	J Med Virol 2008; 80: 261-267	2003年4~10月にイタリアの血液透析施設で患者4名にHCV抗体セロコンバージョンが認められた。この4名と以前からHCV抗体陽性であった10名のHCV RNAおよびHCV遺伝子型を検査し、系統遺伝学的解析をした結果、新規感染患者4名のHCVは遺伝子型2cで、2c型慢性感染患者1名から分離されたウイルスと近縁であった。感染制御手段の不備と装置による伝播が疑われた。	7
80045	2008/03/25	71075	E型肝炎	Arch Virol 2007; 152: 1623-1635	日本においてHEVの不顕性感染が増加しているかを調べるため、1991-2006年の献血者のうちHEV感染の可能性のあるALT 61IU/L以上の4019名から得られた血清検体中の抗HEV IgG、抗HEV IgMおよびHEV RNAを調べたところ、2004-2006年の献血者のHEV陽性率は1998年のそれと同等であった。またALT 201IU/L以上の献血者についても1991-1995年、1996-1999年および2004-2006年でHEV陽性率の差は見られなかった。	
80045	2008/03/25	71075	E型肝炎	J Med Virol 2008; 80: 283-288	英国サウスハンプシャーの単一施設において2005年6月から13ヶ月間にE型肝炎13例が発生した。これらの患者はルーチンのE型肝炎血清検査を導入開始後に特定された。同一期間中A型肝炎は2例、B型肝炎は4例であったことから、原因不明の急性肝疾患を発症し、関連する渡航歴のない患者全員にルーチンのE型肝炎検査を実施することが重要と考えられる。	8
80054	2008/04/11	80053	E型肝炎	N Engl J Med 2008; 358: 811-817	2004年1月1日~2006年12月31日に腎移植(241名)または肝移植(86名)を受けた患者の移植時の抗HEV IgG保有率は、各々14.5%または10.4%であった。この内、肝移植を受けた3名、腎移植を受けた9名、腎臓と脾臓の移植を受けた2名の計14名で急性HEV感染を同定したが、全員血清HEV RNA陰性であり、内8名が慢性肝炎となった。移植から診断までの時間は短く、慢性肝炎に進展した患者ではリンパ球数並びにCD2、CD3およびCD4 T細胞数が有意に低かった。	9
80033	2008/03/18	71045	E型肝炎	第55回日本ウイルス学会 学術集会 2P207	HEVに感染したブタ糞便より精製した4種のHEVは、ウイルス除去膜 PLANOVA15Nおよび20Nで全て検出限界以下にまで除去された。液状加熱実験では、PBS組成では加熱開始後短時間で全て検出限界以下となったが、アルブミン存在下では4株とも加熱開始後5時間目でも検出された。HEVは熱に弱いと考えられていたが、条件によって不活化効果が異なることから、血液製剤や加工食品において慎重に不活化効果を検討しなければならない。	
80100	2008/05/30	80207	HIV	AIDS 2007; 21: 2351-2353	フランスの新規HIV診断例におけるHIV-2およびHIV-1グループO型の感染率を調べた。2003年1月から2006年6月に10184例のHIV新規診断症例が報告されたが、HIV-2およびHIV-1グループO型感染の割合は、各々、1.8%および0.1%であった。これらの症例のほとんどは、異性との接触により感染した流行地域出身の患者であった。HIV-2感染のうち3例は男性と性的関係を持つ非アフリカ系男性であった。	10
80045	2008/03/25	71075	HIV	Clin Infect Dis 2007; 45: e68-71	ボツワナで急性HIV-1感染スクリーニング中に特定された抗体陰性のHIV-1サブタイプC感染の初の症例を報告する。HIV-1抗体検査の結果は、迅速検査、通常の酵素免疫測定法及びウエスタンブロットで全て陰性であった。遺伝子組換えがないHIV-1サブタイプC感染は、ウイルスのgag、pol及びenvi遺伝子のジェノタイプングによって確定された。臨床的に安定した状態からAIDS関連死までの期間は約3か月だった。サブタイプCが優勢なアフリカ南部における血清学検査陰性HIV-1感染の調査の重要性が示された。	
80045	2008/03/25	71075	HIV	Eurosurveillance 2007; 12(5): E070524.5 2007年5月24日	AIDS最新号において、LikataviciusらはEuroHIV surveillance networkによるヨーロッパの供血血液のHIV陽性率についての14年間のモニタリングデータを提示した。この分析は、1990-2004年のWHO欧州地域のデータが網羅されている。2000-2004年の10万供血中の平均HIV陽性率は西欧1.7、中欧3.4、東欧36.7であった。1990年以降の変化では、西欧で低下、中欧で横ばい、東欧では急激な上昇が認められた。	

血対ID	受理日	番号	感染症(PT)	出典	概要	新出文献No.
80045	2008/03/25	71075	HIV感染、C型肝炎、B型肝炎	第31回日本血液事業学会総会 2007年10月3-5日 シンポジウム4-2	日本赤十字社血液事業本部が関わる安全対策の取り組みと感染症リスクについて報告する。平成16年から18年までの3年間に全国の医療機関から日赤血液センターに報告された輸血関連感染症(疑い症例を含む)の報告数は749例であった。日赤の安全対策の実施によりHBV、HCV及びHIVの感染リスクは減少し、安全性は高くなった。しかし、HCV及びHIVも含め適及調査の実施により確認された感染症例も少なくない。感染拡大を防止するための安全対策を引き続き講じていく必要がある。	
80045	2008/03/25	71075	HTLV	American Society of Hematology 2007年12月8-11日	1999年1月~2006年12月に長崎で献血を行った初回献血者の年齢別、出生年別および期間別HTLV-1血清陽性率の傾向分析を行った。血清陽性率は年齢が高くなるにつれ有意に増加した。また1987~1990年に生まれた献血者では1985~1986年に生まれた献血者と比較して有意に低かった。ウイルスキャリアの母親の授乳を避ける事を指導した県の対応が陽性率の低下に貢献していることが示された。	11
80100	2008/05/30	80207	インフルエンザ	AABB Weekly Report 2008年2月29日	インフルエンザパンデミックと血液供給に関するAABBの作業部会は、パンデミック時に供血間隔の例外的な取り扱いを認めるよう2月14日にFDAに対し要望書を送付した。パンデミック時には適格な供血者数が制限されることが予想されるため、全血および赤血球採取の間隔を短くすることが最も有効であるとしている。	12
80059	2008/04/22	80083	インフルエンザ	Emerg Infect Dis 2007; 13: 1865-1870	カナダの共同農場で生活していた7ヶ月齢の乳児から、A/Canada/1158/2006と名づけられたブタインフルエンザAウイルス(H3N2)が単離された。この農場のメンバー90名のうち54名で同ウイルスに対する血清学的検査を行ったところ、54名中9名が陽性であった。また、ブタ10頭のうち1頭で血清陽性が明らかになった。ブタインフルエンザウイルス株は効率的にヒトからヒトへ伝染する形に適應または交雑することから、インフルエンザ流行への備えの一環として養豚者の定期的サーベイランスを検討すべきである。	13
80069	2008/04/24	80108	ウイルス感染	AIDS Res Hum Retroviruses 2007; 23: 1330-1337	Simian Foamy Virus (SFV)感染した男性7名を長期間追跡調査した。男性は非ヒト霊長類と接触する職業であった。男性の全ての末梢血単核球(PBMC)からプロウイルスDNAが検出され、口腔や尿生殖検体から検出されることもあった。長期間(中央値20年)の性的曝露にかかわらず妻たちは陰性であった。特異的な臨床症状は報告されなかった。限定的な追跡調査であるためSFV関連疾患やヒト-ヒト感染を特定できなかった。	14
80045	2008/03/25	71075	ウイルス感染	CDC Press Release 2007年8月22日	米国疾病対策予防センター(CDC)と協力施設の科学者がよく見られるアフリカフルーツコウモリ一種でマールブルグウイルス感染を特定することに初めて成功した。マールブルグウイルスは、ヒトや霊長類に重篤で死に至ることも多い出血熱を引き起こす。コウモリがマールブルグウイルスを保有することが疑われていたが、証拠はなかった。この研究結果はPlos ONEに掲載された。この研究は、マールブルグウイルスの伝播についてより理解し、ヒトにおける感染拡大を予防・減少させる助力になるとと思われる。	
80045	2008/03/25	71075	ウイルス感染	CDC/MMWR 2007; 56(45): 1181-1184	米国4州における2006-2007年のアデノウイルス血清型14(Ad14)に関連した急性呼吸器疾患に関する報告である。Ad14は稀にしか報告されないが、全ての年齢層の患者に重症で致死的な呼吸器疾患を起こす可能性がある。2006年5月にニューヨーク州で生後12日目の乳児がAd14感染により死亡し、07年3-6月にオレゴン州、ワシントン州およびテキサス州で計140名の感染患者が確認された。これらの患者から新規のAd14変異種が分離された。	15
80045	2008/03/25	71075	ウイルス感染	J Clin Microbiol 2007; 45: 3008-3014	ヨーロッパでの出血熱は主にPuumalaウイルス(PUUV)またはDobravaウイルス感染による。ドイツ南東部Lower Bavariaでハンタウイルス感染患者31名について、酵素免疫測定法、免疫蛍光法、免疫プロット法による診断を行った。標準的検査による抗体のPUUV特異的タイピングができない症例が2、3あった。3名の患者の急性期血清から得たPUUV RNAをRT-PCRを用いて増幅したところ、同地域で捕獲したハタネズミから得たウイルス配列と非常に近縁であることが明らかとなった。	
80048	2008/03/25	71078	ウイルス感染	J Med Virol 2008; 80: 365-371	定期的に輸血を受けるサラセミア患者で、Torque Teno virus (TTV)の有無を調べたところ、2-20歳の患者の約10%(118名中12名)がTTV陰性であった。フェリチン、ASTおよびALT値はTTV陽性群より陰性群の方が低かった。TTV-HCV共感染群ではフェリチンおよびALT値がTTV単独感染群より高かった。輸血による高頻度かつ継続的なTTV感染はサラセミア患者における肝機能障害と相関することが示唆された。	16

血対ID	受理日	番号	感染症(PT)	出典	概要	新出文献No.
80045	2008/03/25	71075	ウイルス感染	ProMED-mail20070930.3228	オーストラリアQueensland州で蚊が異常発生し、ロズリバーウイルスが拡大している。通常は北部の熱帯地域で優勢であるが、Brisbane南部における過去4週間の感染者数は、昨年(2006年)同時期のほぼ450%である。Queensland保健局の発表によると、過去4週間に報告された感染者数は93例であった。	
80059	2008/04/22	80083	ウイルス感染	ProMED-mail20080218.0645	2008年1月21日、Braziliaで32歳の男性が黄熱のため死亡した。これは、ブラジルにおける15人目の黄熱死亡患者である。Mato Grossoでも1名の感染と死亡が確認された。パラグアイ保健当局は首都Asuncionの病院で集中治療を受けていた39歳の女性が2008年2月16日に死亡したと発表した。同国ではこれまでに、少なくとも6名が黄熱によって死亡した。多くの市民がワクチン投与を求めて病院に殺到している。	17
80045	2008/03/25	71075	ウイルス感染	Transfusion 2007: 47: 1972-1983	供血者血漿検体中のサイトメガロウイルス(CMV) DNA陽性率を検討した。過去にCMV血清陰性で初めて抗CMV IgG陽性を示した供血者82名の血漿検体44%が反復的にCMV DNA陽性であった。1年以上血清反応陽性または血清反応陰性供血者はいずれもCMV DNA陰性であった。白血球除去の実施にもかかわらず、新規血清反応陽性供血者のウイルス血症は輸血伝播性CMVの残存リスクの重要な原因と考えられる。	18
80045	2008/03/25	71075	ウイルス性脳炎	Neurology 2007: 69: 156-165	同種造血幹細胞移植(HSCT)後に急性大脳辺縁系脳炎を発症した患者9名の臨床、EEG、MRI、ならびに臨床検査特性を調べた。患者は、順行性健忘、不適切な抗利尿ホルモン分泌症候群、軽度CSF多球症、一時的なEEG異常を特徴とした。MRIでは、T2、FLAIR、DWI画像にて、鉤、扁桃、内側嗅領、海馬領域内に高信号域を認めた。PCRを用いた初回腰椎穿刺CSFの検査では9名中6名がHHV6陽性であり、同脳炎はHHV6と関連がある可能性が示唆された。	
80069	2008/04/24	80108	ウエストナイルウイルス	J Med Virol 2008; 80: 557-563	中央ヨーロッパにおけるウエストナイルウイルス(WNV)の潜在的脅威を調べた。ドイツ人供血者14437名由来の検体中0.03%が抗WNV陽性であった。ドイツ人9976名由来の検体をWNV NAT法を用いてWNV-RNAの有無を調べた結果、全て陰性であった。米国由来血漿プールではWNV-RNAがしばしば検出されたが、ヨーロッパやアジア由来のプールからは検出されなかった。また、血漿製剤製造過程のウイルス不活化によりWNVに関する安全性は保証されることが明らかとなった。	19
80045	2008/03/25	71075	ウエストナイルウイルス	The New York Times 2007年7月26日	米国におけるウエストナイルウイルス症例数は1年前の約4倍であり、大流行がおこる可能性があると政府研究者が報告している。昨年は米国で4,269症例が報告され、この中には1,495例の脳症が含まれ、177人が死亡した。今年はこれまで122症例が報告され、カリフォルニア州と南北ダコタ州で最も多いが、昨年の同時期は33例のみであった。今年は既に脳症が42例および死亡が3例ある。	
80045	2008/03/25	71075	ウエストナイルウイルス	第144回日本獣医学会学術集会 2007年9月2-4日	近い将来、日本にも侵入する可能性があるため、日本産蚊の室内継代株を用いてウエストナイルウイルス増殖・媒介能を調べた。アカイエカ、ヒトスジシマカ、オオクロヤブカでウイルス注入実験を、アカイエカ、ヒトスジシマカで吸血実験をしたところ、全種類の蚊においてウイルスの増殖が観察された。媒介試験では、アカイエカ注入、吸血両群、ヒトスジシマカ2系統の注入群、1系統の吸血群では供試したすべてのマウスが12日以内に死亡し、死亡したマウスからはWNV が検出された。	
80030	2008/03/12	70993	エボラ出血	CDC 2008年1月8日	CDCとウガンダ保健省は、2007年8月から始まったウガンダ西部に位置するBundibugyo地区におけるエボラ出血熱のアウトブレイクを報告した。2008年1月3日までに148人が罹患し、37人が死亡した。患者検体の遺伝子解析により、既知の4つのエボラウイルス株と異なる、新たなウイルス株である可能性が示唆された。確定には更なる研究が必要である。	
80045	2008/03/25	71075	エボラ出血	ProMED-mail20071130.3869	保健当局は、ウガンダ西部において16名が死亡し、他に50人が罹患したエボラウイルスは、新規の株であると2007年11月30日に発表した。最初の症例はコンゴ民主共和国と国境を接するBundibugyo地区において11月10日に報告された。この株では出血はあまり見られず、患者は高熱の後、死亡する。	20

血対ID	受理日	番号	感染症(PT)	出典	概要	新出文献No.
80045	2008/03/25	71075	クロイツフェルト・ヤコブ病	2007年プリオン研究会 Poster-20	日本の人口動態統計では、CJDによる死亡は過去20年以上に渡り増加傾向を示し、2005年は人口100万対1.23人であった。CJDサーベイランス委員会による調査では過去8年間に918例がプリオン病と判定された。病型別では、孤発性CJD 716例、遺伝性プリオン病 128例、感染性(獲得性)CJD 72例(変異型CJD 1例、硬膜移植後CJD 71例)、および分類不能 2例であった。	
80045	2008/03/25	71075	チクングニヤウイルス感染	Eurosurveillance 2007; 12(9): E070906.1	チクングニヤ熱は2005年以来、大規模な流行がインド洋諸島とインドから報告されているが、これまでヨーロッパ地域内での蚊による感染伝播は発生していなかった。2007年8月にイタリアのエミリア・ロマーニャ州ラヴェンナ県衛生当局は異常に多数の発熱患者発生を検知し、臨床・疫学調査を行った。血清学的検査およびPCR法でチクングニヤ熱と確定された。更にヒトスジシマカからもPCR法によりチクングニヤウイルスが確認された。2007年9月4日までに合計197名の患者が報告されている。	
80045	2008/03/25	71075	チクングニヤウイルス感染	Lancet 2007; 370: 1840-1846	イタリア北東部の隣接する2つの村で原因不明の発熱性疾患患者が多数報告され、ヒトおよび蚊由来の検体を分析した結果、チクングニヤウイルス(CHIKV)が原因であることが明らかとなった。2007年7月4日から9月27日の間に205例のCHIKV感染症例を同定した。村の親戚を訪問した時に発症したインド出身男性が初発症例と推定された。系統遺伝学的分析により、イタリアのCHIKV株はインド洋諸島での初期のアウトブレイクで分離された株と高い相同性を示した。	21
80045	2008/03/25	71075	チクングニヤウイルス感染	Pediatr Infect Dis J 2007; 26: 811-815	チクングニヤウイルス感染が大流行したレユニオン島の5つの新生児医療部門で同ウイルスの母子感染を調べるため、後ろ向き記述的研究を実施した。母親は出産時に徴候があったか又は新生児が出生初日に発病したかをスクリーニングし、新生児38名を登録した。無症候の2名を除き、全母親が周産期(分娩4日前~1日後)に症状があった。全新生児が発熱(79%)、疼痛(100%)などの症状を示し、脳脊髄液のPCR法は24名中22名で陽性であった。高い罹患率の周産期母子伝播の可能性が初めて示された。	
80030	2008/03/12	70993	チクングニヤウイルス感染	PLoS Pathogens 2007; 3: 1895-1906	2005~2006年にレユニオン諸島でアウトブレイクしたチクングニヤウイルス(CHIKV)感染は、エンペロープ蛋白遺伝子の変異株(E1-A226V)が関係していた。この変異の、ネッタイシマカおよびヒトスジシマカにおけるCHIKV適合性に対する影響を調べた。その結果、CHIKVのヒトスジシマカに対する感染性が有意に増加し、哺乳マウスへの伝播がより効率的になることが明らかとなった。通常のベクターであるネッタイシマカがいない同地域でCHIKVが大流行したのはこの変異が原因と考えられる。	
80046	2008/03/25	71076	ツツガムシ病	朝鮮日報 2007年8月21日	韓国では最近ツツガムシ病の患者が急増している。2007年8月20日、疾病管理本部の発表によると、2002年に1,919人だったツツガムシ病の患者数が、04年は4,698人、06年には6,420人に増加したことが分かった。1993年末に法定伝染病に指定されて以来、患者数は実に25倍以上増加した。ツツガムシ病は、主に9月以降、ツツガムシ菌に感染したツツガムシ(ダニの一種)の幼虫に刺されることにより感染する。10日間程度の潜伏期を経ると、突然高熱が発生し、目の充血、頭痛、筋肉痛、発疹などの症状が現れる。	
80045	2008/03/25	71075	デング熱	ProMED-mail20071001.3237	2007年9月30日、中国保健当局はFujian省Putian市で39例のデング熱症例が確定されたと発表した。ベトナムでは2007年9月24日時点で約68000人が感染し、内60名が死亡した。パキスタンでは2007年9月26日、Karachiで新たに22例のデング熱症例が報告された。ラテンアメリカとカリブ海諸国ではデング熱の最悪のアウトブレイクが起こっており、2007年になってから何十万もの人々が関節痛を訴え、約200人が死亡した。	
80045	2008/03/25	71075	デング熱	YAHOO!ニュース 2007年10月14日	台湾南部でデング熱が流行している。台南市当局によると2007年10月13日までに市内で511人の感染者が確認された。隣接する高雄市でも2つの区で集団感染が発生しており、感染の広がりは過去最大規模である。行政と軍が協力して大規模な蚊の撲滅作戦を展開する方針である。	
80046	2008/03/25	71076	トリパノソーマ症	ABC Newsletter 2007年9月14日	AABBはCDCからAABBシャーガス病バイオビジュランスネットワーク強化をするための資金を受けている。2007年9月13日時点で、反復反応性供血710件でT. Cruzilに対する抗体の追加RIPA試験を行った結果、196例がRIPA陽性、486例が無反応で、残りの検体については結果保留となっている。13の検査施設がシャーガスネットワークにデータを報告し、18の検査施設が報告のため同ネットワークにアクセスしている。	

血対ID	受理日	番号	感染症(PT)	出典	概要	新出文献No.
80059	2008/04/22	80083	トリパノソーマ症	Clin Infect Dis 2008; 46: e44-47	血液製剤の輸血によりシャーガス病に感染し、死亡したスペイン人患者の寄生虫学的、血清学的疾患経過、ならびに供血者の調査の報告である。患者は白血病の既往があり、176名以上の供血者由来の輸血を受けていた。臍帯血移植のための免疫抑制状態で、寄生虫が血液脳関門を通過して神経系に感染したことが確認された。特定された供血者は無症候であった。複数回輸血患者は、免疫抑制剤治療実施前に、抗Trypanosoma cruzi抗体のスクリーニングを受けるべきである。	22
80046	2008/03/25	71076	トリパノソーマ症	CMAJ 2007;177: 242	カナダ血液サービスは、2008年後半の血液製剤製造プロセス見直しの際に北緯49度以北では稀にしか見られないシャーガス病のスクリーニングを開始する。2種類のシャーガス病検査法がカナダ保健省の認可を待っている。供血血液の検査実施は、血小板製剤の製造を「バフィーコート」法に切替えてからとなる。メキシコや中南米では800万人~1,100万人がシャーガス病の保因者であり、毎年45,000人以上死亡している。カナダでは、これまでに輸血による感染が2例 Manitobaで発生した。	
80046	2008/03/25	71076	トリパノソーマ症	第48回 日本熱帯医学会大会 12C-02	日本におけるラテンアメリカ人の慢性シャーガス病キャリアーからの献血についての対策を検討した。カーミC液(CPD液)を用いてT.Cruzi感染マウス血液を4°Cにて1-21日間保存処理を行ったところ、マウスへの感染性は無処理のものとの差異は無かったが、病原性はかなり減弱することが示された。しかし、T.Cruzi虫体はほとんどの白血球除去フィルターを通過した。現在の保存血液提供システムはシャーガス病の輸血感染防止には不十分であり、対策の改善が必要である。	
80059	2008/04/22	80083	トリパノソーマ症	第48回 日本熱帯医学会大会 2007年10月12-13日 12C-02	日本におけるラテンアメリカ人の慢性シャーガス病キャリアーからの献血についての対策を検討した。カーミC液(CPD液)を用いてT.Cruzi感染マウス血液を4°Cにて1-21日間保存処理を行ったところ、マウスへの感染性は無処理のものとの差異は無かったが、病原性はかなり減弱することが示された。しかし、T.Cruzi虫体はほとんどの白血球除去フィルターを通過した。現在の保存血液提供システムはシャーガス病の輸血感染防止には不十分であり、対策の改善が必要である。	
80048	2008/03/25	71078	パルボウイルス	J Gen Virol 2007; 88: 2162-2167	ヒト血漿プール中に新規のパルボウイルスPARV4とその変異株であるPARV5が存在することが最近示された。4株のPARV4と2株のPARV5のDNA配列を分析したところ、PARV5はPARV4と同様に2つのオープンリーディングフレームを持ち、PARV4とPARV5は92%近くのヌクレオチド相同性を示した。両者は密接な関係のあるジェノタイプであり、ジェノタイプ1と2(PRV5と呼ばれていたもの)から成るPARV4という1つのウイルス名を使用することを提案する。	
80045	2008/03/25	71075	パルボウイルス	Transfusion 2007; 47: 1756-1764	米国の血液センター7施設において2000-2003年の期間に採取した5020名の供血者由来の保存血漿検体を高感度PCRスクリーニング法を用いてパルボウイルスB19 DNAについて検査した。B19 DNA陽性率は0.88%であった。DNA陽性検体の全てがIgG陽性で、23%がIgM陽性であった。IgM血清陽性率はDNA値と相関した。	
80041	2008/03/24	71071	パルボウイルス	Transfusion 2007; 47: 1765-1774	B19ウイルスの不活性化機構を調べた。熱または低PHによるB19Vの不活性化はカプシド分解によるものではなく、感染性プリオンがDNA枯渴カプシドへ変換することによって起こった。DNA枯渴カプシドは感染性はないが、標的細胞に接着することは可能であった。Parvoviridaeの他のウイルスとの比較試験の結果、被殻状態でのB19V DNAの著しい不安定性が明らかとなった。B19Vが不活化処理に抵抗性が低いのはこのためと考えられる。	
80077	2008/04/25	80124	パルボウイルス	Transfusion 2007; 47: 1775-1782	ドイツ及びオーストリアで2003-2006年の計280万の供血検体をパルボウイルスB19(B19V)についてミニプールNATによりスクリーニングした。その結果、10万IU/ml以上は10万供血当たり12.7、10万 IU/ml未満は10万供血当たり261.5であった。10万 IU/ml未満のB19Vを含有する検体では全てに中和抗体(VP2)が検出された。10万 IU/ml未満のB19 DNA陽性血液製剤は高濃度の中和抗体を含有するため安全であると思われる。	23
80062	2008/04/22	80086	パルボウイルス	Transfusion 2008; 48: 178-186	B19V IgG力価に関係したB19V中和の役割を検討するため、製造血漿プール1000以上について酵素免疫測定法による検査を実施した。血漿プールは平均33±9IU/mL(最小値11IU/mL)のB19V IgG力価を含有し、これらの11IU/mLのB19V IgGは、B19V遺伝子型1の感染性を4.6 log、遺伝子型2の感染性を3.9 log以上を中和した。このため、このようなプール由来の10%静注用免疫グロブリン製剤(IVIG)は、さらに高いB19V中和活性を含有することが明らかとなった。	24



血対ID	受理日	番号	感染症(PT)	出典	概要	新出文献No.
80077	2008/04/25	80124	パルボウイルス	Vox Sanguinis 2007; 93: 208-215	2005年3月から2007年3月の間にオランダで約260万の血漿成分検体を対象として2種類のPCRアッセイを用いたパルボウイルスB19(B19V)のスクリーニング試験を実施した。その結果、232検体がB19V DNA値100万IU/ml以上であった。ヨーロッパ人ドナーにおいてはB19V遺伝子2型及び3型の保有率は極めて低いと考えられた。	25
80077	2008/04/25	80124	パルボウイルス	Vox Sanguinis 2007; 93: 216-222	ヒト血漿中のパルボウイルスB19(B19V)抗原を検出するEIAを開発した。本アッセイを用いて無症候性ドナーから採取したウイルス血症性の献血検体を検査したところ、低pHの状態ではB19V検出が大幅に増加した。また、B19抗原の検出はB19 IgMまたはIgG抗体存在下で影響を受けなかった。B19V IgMアッセイと併用することにより、急性B19感染の91%を検出した。B19V IgM検出法とB19V抗原EIAの併用はPCRに替わるB19V感染の有効な検出法となると思われる。	26
80033	2008/03/18	71045	パルボウイルス	Vox Sanguinis 2007; 93: 341-347	過去30~35年間に製造された第Ⅷ因子製剤中にヒトパルボウイルスが存在するかを調べた。175ロットのうち28ロットがPARV4シークエンスを含み、その内2ロットにジェノタイプ1型及び2型の両方が存在した。最大ウイルス量は10 <sup>5</sup> copies/mL以上であった。PARV4陽性の第Ⅷ因子製剤の大部分は1970年代及び1980年代に製造されていた。B19Vは175ロット中70ロットで陽性であった。	
80077	2008/04/25	80124	パルボウイルス	Vox Sanguinis 2008; 94: 74-80	パルボウイルスB19(B19V)の新規の遺伝子型が発見されていることから、種々の遺伝子型のB19V検出及び定量結果を統一する方法を見いだす目的で国際ワーキンググループ会議が2007年3月に開催された。その会議の要旨である。会議では、B19V株の分類、種々の遺伝子型の有病率、分布、臨床的意義などが検討された。また、特性が十分に明らかになっている標準物質を用いたアッセイの標準化について合意が得られた。	27
80054	2008/04/11	80053	ヒトポリオマウイルス感染	Science 2008; 319: 1096-1100	メルケル細胞癌(MCC)検体をdigital transcriptome subtraction法を用いて検査し、新種のポリオマウイルスを同定し、メルケル細胞ポリオマウイルス(MCVまたはMCPyV)と命名した。このウイルスはMCC腫瘍10検体中8例(80%)で検出されたが、対照組織検体では59例中5例(8%)、対照皮膚組織検体では25例中4例(16%)でしか検出されなかった。MCVがMCCの病原因子である可能性が示唆された。	28
80046	2008/03/25	71076	ブルセラ症	J Travel Med 2007; 14: 343-345	64歳の日本人男性が6週間続く発熱で1998年6月2日に都内の病院に入院した。入院時の血液培養からグラム陰性桿菌が検出され、Brucella melitensis 2型と同定された。患者は同年3月にイラクに滞在し、ヒツジのチーズを摂取したことが明らかとなった。患者の妻(60歳)が同年5月31日から発症し、Brucella melitensisが血液と関節液の培養で検出された。イラクの帰国者からその妻へ、ブルセラ症が性感染した可能性がある。	29
80059	2008/04/22	80083	ペスト	Emerg Infect Dis 2007; 13: 1459-1462	2003年6月から7月にアルジェリアOran地区においてペストの集団感染が発生した。同国では、この疾患は50年以上報告されていなかった。腺ペスト症例18名が特定され、Yersinia pestisが6名から分離された。初発患者を除き、全員が回復した。標的予防的薬療法、衛生、ベクターコントロールが、感染制御上重要な役割を果たした。疫学的、分子生物学的な知見から、当該期間中、現地の保菌動物の存在が強く示唆されたが、その起源については特定できなかった。	30
80046	2008/03/25	71076	リケッチア症	Jpn J Infect Dis 2007; 60: 241-243	血清学的、微生物学的に確定された日本紅斑熱の初めての死亡症例を報告する。淡路島在住の77歳男性で、2005年9月2日に食欲低下を呈し、翌日、下腿に皮疹が出現、4日目に38.7°Cの高熱、歩行障害、構音障害が出現、肝機能障害が急速に進行し、DIC、消化管出血により8日目に死亡した。右肩にダニ刺し口があった。血液よりDNAを抽出し、PCRを実施したところ、塩基配列はR. japonicaと100%一致した。日本紅斑熱は増加傾向にあり、注意が必要である。	
80030	2008/03/12	70993	リンパ性脈絡髄膜炎	N Engl J Med 2008; 358: 10.1056/NEJMoa073785	オーストラリアで一人のドナーから臓器移植を受けた3例が移植後4-6週後に死亡した。他のいかなる方法でも原因不明であったが、2例のレシピエントの移植肝および腎から得られたRNAを偏りのない迅速シークエンシングで解析することにより、リンパ性脈絡髄膜炎に関係する新規のアレナウイルスが原因であることが明らかとなった。レシピエントの腎、肝、血液および脳脊髄液からこのウイルスが検出され、また免疫組織学および血清学的に確認された。この方法は病原体発見の強力な手段である。	
80054	2008/04/11	80053	リンパ性脈絡髄膜炎	N Engl J Med 2008; 358: 991-998	オーストラリアで一人のドナーから臓器移植を受けた3例が移植後4-6週後に死亡した。他のいかなる方法でも原因不明であったが、2例のレシピエントの移植肝および腎から得られたRNAを偏りのない迅速シークエンシングで解析することにより、リンパ性脈絡髄膜炎に関係する新規のアレナウイルスが原因であることが明らかとなった。レシピエントの腎、肝、血液および脳脊髄液からこのウイルスが検出され、また免疫組織学および血清学的に確認された。この方法は病原体発見の強力な手段である。	

血対ID	受理日	番号	感染症(PT)	出典	概要	新出文献No.
80045	2008/03/25	71075	異型クロイツフェルト・ヤコブ病	2007年プリオン研究会 Poster-38	BSE感染ウシ由来の脳乳剤を用いてPrPresのin vitro感染系の確立を試みた。感染させたヒト由来グリオーマ細胞株から抗プリオン抗体に反応する約30KのPK耐性のバンドが検出された。このバンドは非感染細胞には存在しなかった。また、9ヶ月継代した感染細胞の培養上清に伝達性があることが明らかとなった。さらに20nmのウイルス除去膜によって培養上清の伝達性が減少することが認められた。	
80045	2008/03/25	71075	異型クロイツフェルト・ヤコブ病	Arch Neurol 2007; 64: 1780-1784	運動失調や記憶障害などを呈し、発症後14ヶ月で死亡した患者(39歳女性)の剖検を行ったところ、白質の広汎な変性と皮質および白質におけるPrP沈着を示す非定型孤発性CJDであった。小脳組織由来のPrPScを分子分析した結果、vCJDでみられるPrPSc 4型と似た新規のPrPScであることが示された。典型的vCJDとはEDTA存在下でのプロテアーゼ開裂部位が異なった。この患者のPRNPコドン129はホモバリンであった。	31
80080	2008/04/25	80127	異型クロイツフェルト・ヤコブ病	Biochem Biophys Res Commun 2007; 364: 796-800	正常な脳ホモジネートを慢性消耗性疾患エルクの異常プリオンとともにインキュベートするin vitroアッセイを用いて、プリオンの転換について調べた。標準的条件下(pH 7.4)ではPrPCからPrPScへの転換は同種(トナカイ、ムースなど)でのみ効率的であったが、酸性条件下(pH3.5)では異種(ヒト、ウシ、ハムスターおよびマウス)においても転換が著しく促進された。基質の部分変性によって構造上の変化が起こり、遠隔種	32
80033	2008/03/18	71045	異型クロイツフェルト・ヤコブ病	Biologicals 2007; doi:10.1016/j.biologicals.2007.04.005	異なるポアサイズのウイルス除去膜を使用し、異なる処理を行ったスクレイピープリオン蛋白(PrPSc)の除去能力を評価した。超音波処理により粒子径分布を最適化するように調製した263K MFをスパイク物質として使用したときは、75nmのろ液中にPrPScが検出された。15nmのろ過のみが全ての条件でウエスタンブロット法の検出限界以下までPrPScが除去されることが示された。しかし、1条件下の15nmろ液のバイオアッセイの結果では、感染性PrPScが確認された。	
80033	2008/03/18	71045	異型クロイツフェルト・ヤコブ病	J Biol Chem 2007; 282: 35878-35886	トランスジェニックマウス(101LL)を用いた感染性実験の結果、TSE疾患の臨床症状と脳の空胞化という徴候を示すがPrPScのレベルが低いもしくはイムノブロット法では検出されない動物の脳組織内に、高力価のTSE感染性が存在していることが明らかとなった。この結果はPrPScのレベルと感染価との間の相関性に疑問を投げかけるものであり、プロテアーゼ抵抗性のPrPをほとんどもしくは全く含まない組織が感染性となりうること、および高力価のTSE感染性を有していることを示すものである。	33
80100	2008/05/30	80207	異型クロイツフェルト・ヤコブ病	J Virol 2008; 82: 3697-3701	非典型的BSE株の一つであるBASE(またはBSE-L)の感染性およびヒトでの表現型を調べた。BASEウシ由来の脳ホモジネートを、ヒトプリオン蛋白を発現するトランスジェニック(Tg)マウスに接種したところ、60%が20-22ヶ月後に感染し、古典的BSEに関する報告より高い感染率であった。BASE感染ヒト化Tgマウス脳における病理性プリオンのアイソフォームは、元のウシBASEまたは孤発性ヒトプリオン病のものとは異なっていた。またBASEプリオンはリンパ向性であった。	34
80059	2008/04/22	80083	異型クロイツフェルト・ヤコブ病	Microbiol Immunol 2007; 51: 1221-1231	感染動物モデルにおいても、血中のPrPresは白血球を除きめつたに検出されない。新規の酸性SDS沈殿法と高感度化学発光法とを組み合わせることにより、プロテイナーゼK耐性3F4反応性タンパクが、スクレイピー感染ハムスターの血漿中からは検出されるが、疑似感染ハムスターでは検出されないことが示された。血漿中においてPrPresは他の血漿タンパクと糖鎖を通じて凝集しており、スクレイピー感染ハムスター血漿において検出可能となったことが示唆された。	35
80062	2008/04/22	80086	異型クロイツフェルト・ヤコブ病	Prion 2007 P04.102 2007年9月26-28日	1987年6月から1998年9月にかけて出荷された計175バッチの血漿製剤中に、後にvCJDと診断された11名からの供血が含まれていたが、これらの製品に関係したvCJD症例は今までのところ全く報告されていない。これは赤血球輸血によると思われるvCJD感染が3例あることと対照的である。血漿分画製剤の製造工程によるプリオン除去効果を調べたところ、2.7~11.5log以上の除去能があることが明らかとなった。	
80045	2008/03/25	71075	異型クロイツフェルト・ヤコブ病	Prion 2007; 2007年9月26-28日 Edinburgh P04.51	73歳の受血者で生前に特定されたvCJDの非典型的症状の報告である。患者は1997年12月に輸血を受けたが、供血後にvCJDを発症した供血者由来の赤血球製剤であった。輸血から6年後、受血者は疲労及び集中困難を訴えたが、神経学的検査及び脳MRIは正常であった。この6ヶ月後に神経学的症状が発現し、進行したが、血清学的検査は正常であった。MRIでは視床背側核全体の顕著な信号変化が示された。vCJDの長期潜伏期間と無症候状態は、重大な公衆衛生問題を提示する。	

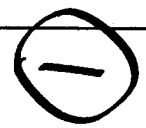


血対ID	受理日	番号	感染症(PT)	出典	概要	新出文献No.
80045	2008/03/25	71075	異型クロイツフェルト・ヤコブ病	ProMED-mail20080107.0087	英国National CJD Surveillance Unitに報告された2008年1月7日現在のCJD数は、vCJD診断確定死亡症例(確定例)114名、vCJD可能性死亡症例(神経病理学的確定診断がない)48名、vCJD可能性死亡症例(神経病理学的確定診断待ち)1名で、vCJD診断確定または可能性例の死亡総数163名であった。生存中のvCJD可能性症例数は3名であった。英国におけるvCJD流行は減少しつつあるという見解に一致する。	36
80095	2008/05/26	80188	異型クロイツフェルト・ヤコブ病	Transfusion 2008; 48: 609-619	ヒツジのリコンビナントPrP (rPrP) のヒツジにおける血液クリアランスならびにスクレイピー関連フィブリル(SAF)静注後のPrPresへの曝露について調べた。rPrPのARR変異型は、VRQ変異型よりもより早く除去された。また、PrPcのARR変異型のクリアランスがVRQ変異型のクリアランスよりも大きいことが示唆された。rPrPの血漿クリアランスは、両腎臓摘出後は52%減少し、rPrP除去に腎臓が重要であることが示された。PrPresはSAF静注後は緩やかに除去された。	37
80080	2008/04/25	80127	異型クロイツフェルト・ヤコブ病	Vet Res 2008; 39: 33	1990年代にウシ海綿状脳症が英国で流行したことを受けて、ヒト及び動物において伝染性海綿状脳症を検出するために開発された様々な技法についての総説である。vCJDが輸血により感染しうることが明らかなることから、vCJDの診断に関する血液検査の開発が最優先事項である。	38
80080	2008/04/25	80127	異型クロイツフェルト・ヤコブ病	Vet Res 2008; 39: 34	伝染性海綿状脳症(TSE)の傳播性を調べるための実験的アプローチ法を要約し、実験における所見と自然発生するTSE(主にウシ海綿状脳症及びスクレイピー)およびコントロール方法との関連性を考察している。	39
80095	2008/05/26	80188	感染	56th Annual Meeting of the American Society of Tropical Medicine and Hygiene 1044	ヒト顆粒球アナプラズマ症(HGA)の発生率は、1999年以来2倍となった。原因病原体のAnaplasma phagocytophilumによる血液の安全リスクを調査するため、間接免疫蛍光法を用いてコネチカット州及びマサチューセッツ州の血液ドナーのA. phagocytophilumに対するヒトIgG抗体を測定した。その結果、2001年から2006年に採取された15,828ドナー血清中432例(2.7%)が抗体陽性であった。比較的高い陽性率が持続していることから、A. phagocytophilumの血液安全性に及ぼす影響を調べる必要がある。	40
80046	2008/03/25	71076	感染	ABC Newsletter 2008年1月11日	血液安全・安定供給諮問委員会は、米国保健社会福祉省事務局に対し、安全で効果的な輸血用血液製剤の病原体低減技術(不活化)の早急な開発を優先して進め、開発され次第実施するよう勧告した。病原体低減の効果と安全性を示すエビデンスの蓄積は、今後蔓延する可能性のある感染症に対し広く適応できるセーフガードとして、この技術の導入を保証するという決議を採択した。	41
80077	2008/04/25	80124	感染	Transfusion 2007; 47: 2180-2184	カナダ血液サービスとHema-Quebecが主催した血漿分画製剤における病原体不活化(PI)に関するコンセンサス会議で得られた結論の考察と主な見解が報告されている。現在ヨーロッパで広く用いられているPIがカナダや米国で実現されようとしている。PIを推進することによって、現在の技術や供血者スクリーニング法では防げることができない輸血伝播感染症を減らすことができる。	42
80046	2008/03/25	71076	感染	Transfusion 2007; 47: 2338-2347	2007年3月29-30日、カナダのトロントで行われた病原体不活化(PI)技術に関するコンセンサス会議の報告である。近年の検査技術の発達により、現状の輸血感染症リスクは非常に低く、PIを直ちに導入する事は推奨しない。しかし新興感染症のリスクは未知数であり、PIは予防手段として重要である。広範囲の病原体を不活化できる安全な方法が確立されれば実施すべきである。	43
80045	2008/03/25	71075	感染	Vox Sanguinis 2007; 93(Suppl.2): 31	日本赤十字社(JRC)が全国的ヘモビジランス体制を導入してから14年が経過した。報告された輸血副作用症例数は年間約2000例で、過去3年間はほぼ一定である。非溶血性輸血副作用は報告症例の約80%を占め、輸血関連急性肺障害などが含まれる。輸血感染症の報告数は年々減少している。JRCのヘモビジランスは病院の自発報告に基づいており、病院と血液センターとの協力が不可欠である。	44
80048	2008/03/25	71078	寄生虫感染	Int J Med Microbiol 2007; 297: 197-204	ドイツにおけるヒトバベシア症の初めての症例を報告する。患者は結節性リンパ球性ホジキンリンパ腫が再発し、脾臓摘出されたドイツ人の63歳男性で、リツキシマブ投与後、貧血とヘモグロビン尿による暗色尿のため入院した。末梢血塗抹標本で梨状の寄生虫赤血球封入体が確認されバベシア症と推定され、Babesia特異的18S rDNA PCRによって確認された。シークエンス分析によりEU1と99.7%の相同性があり、EU3と名づけられた。寄生虫が消えるまでにはatovaquoneによる長期治療を要した。	
80046	2008/03/25	71076	細菌感染	ABC Newsletter 2007年9月21日	FDAは輸血前の血小板中の細菌汚染を検出するための初めての迅速検査を販売承認した。Verax Biomedical Inc 製造のPlatelet Pan Genera Detection Test Systemは病院の輸血部で使用するための使い捨て検査機器である。	

血対ID	受理日	番号	感染症(PT)	出典	概要	新出文献No.
80100	2008/05/30	80207	細菌感染	Vox Sanguinis 2008; 94: 193-201	ルックバック調査でPropionibacterium acnes汚染が推定される血小板濃縮製剤(PC)の保存から輸血までを追跡したところ、輸血後の有害事象は見られなかった。In vitro試験でプロピオン酸菌属の臨床分離菌をPCに接種し、好氣的に22°Cで10日間保存という条件下での生育を調べたところ、細菌の生育は緩慢か生育を認めなかった。プロピオン酸菌属はPC保存条件下では増殖しないため、検出されないか、輸血後に検出されると考えられた。	45
80030	2008/03/12	70993	鳥インフルエンザ	China View, www.chinaview.cn 2008-01-10	2007年12月に江蘇省南京で発生した52歳男性の鳥インフルエンザ感染患者は、患者であった息子との濃厚な接触により感染したものであり、ウイルスの変異は認められていない。しかし、息子と父親はいずれも死亡した家禽との接触がないため、息子の感染源は明らかになっていない。息子は11月24日に発症し、12月2日に死亡し、父親は12月3日に発症したが回復した。ヒト用トリインフルエンザワクチンは臨床試験Phase IIの段階にある。	
80045	2008/03/25	71075	鳥インフルエンザ	WHO/CSR 2007年12月9日	中国におけるトリインフルエンザの状況 (update5) : 2007年12月9日、中国衛生省は同ウイルスの新規ヒト感染症例を報告した。Jiangsu省の52才の男性で、12月2日に同ウイルス感染で死亡した24才男性の父親で、現在入院中である。中国での確定例は27例で、うち17例が死亡している。	46
80045	2008/03/25	71075	日本脳炎	Epidemiol Infect 2007; 135: 974-977	2004年11月から2005年2月にかけて、日本の西部に位置する広島県の野生イノシシから血清25検体を採取した。日本脳炎ウイルス(JEV)に対する抗体検査を、IgMキャプチャー及びIgG酵素免疫測定法(ELISA)、並びにブランク減少中和試験により行った。17検体(68%)がJEV中和抗体陽性だった。中和抗体陽性検体は全てIgG-ELISA陽性だった。1検体はIgMも陽性だった。約70%の野生イノシシが抗JEV抗体陽性であることが示され、この地域のJEV感染サイクルに関与している可能性が提示された。	

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 2008. 3. 5	新医薬品等の区分 該当なし	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	OIE - World Organisation for Animal Health. Available from: URL: <a href="http://oie.int/eng/info/en_esbmonde.htm">http://oie.int/eng/info/en_esbmonde.htm</a>	公表国  OIE	
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)					
研究報告の概要	<p>○世界(英国を除く)の畜牛におけるウシ海綿状脳症(BSE)症例の報告数 1989年から2008年(3月現在)までに、世界各国から国際獣疫事務局(OIE)に報告されたウシ海綿状脳症の報告数である。2007年にBSE症例が報告されたのはオーストリア(1頭)、カナダ(3頭)、チェコ共和国(2頭)、ドイツ(4頭)、アイルランド(25頭)、イタリア(2頭)、日本(3頭)、ポーランド(7頭)、スロベニア(1頭)、スペイン(26頭)である。2008年には、これまでにカナダ(1頭)とアイルランド(6頭)から報告されている。</p>					<p>使用上の注意記載状況・ その他参考事項等</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		
<p>1989年から2008年(3月現在)までに、世界各国から国際獣疫事務局(OIE)に報告されたウシ海綿状脳症の報告数である。英国を除くヨーロッパでは、1999年から2003年頃をピークに流行は収束しつつある。</p>			<p>日本赤十字社は、vCJDの血液を介する感染防止の目的から、献血時に過去の海外渡航歴(旅行及び居住)を確認し、欧州36ヶ国に一定期間滞在したドナーを無期限に献血延期としている。また、英国滞在歴を有するvCJD患者が国内で発生したことから、平成17年6月1日より1980～96年に1日以上英国滞在歴のある方からの献血を制限している。今後もCJD等プリオン病に関する新たな知見及び情報の収集に努める。</p>			



defined

- Number of cases in the United Kingdom ■ Number of reported cases worldwide (excluding the United Kingdom)
- Cases in imported animals only ■ Annual incidence rate

### Number of reported cases of bovine spongiform encephalopathy (BSE) in farmed cattle worldwide\*(excluding the United Kingdom)

Country/Year	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
<b>Austria</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2	2	1	
<b>Belgium</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	6	3	9	46	38	15	11	2	2	0	
<b>Canada</b>	0	0	0	0	1(b)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2(a)	1	1	5	3	1(c)
<b>Czech Republic</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	4	7	8	3	2	
<b>Denmark</b>	0	0	0	1(b)	0	0	0	0	0	0	0	1	6	3	2	1	1	0		
<b>Finland</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1(a)	0	0	0	0	0	0	
<b>France</b>	0	0	5	0	1	4	3	12	6	18	31(a)	161(d)	274(e)	239(f)	137(g)	54(h)	31	8		
<b>Germany</b>	0	0	0	1(b)	0	3(b)	0	0	2(b)	0	0	7	125	106	54	65	32	16	4	
<b>Greece</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0(k)	
<b>Ireland</b>	15(a)	14(a)	17(a)	18(a)	16	19(a)	16(a)	73	80	83	91	149(d)	246(e)	333(f)	183(g)	126(h)	69(i)	41(j)	25(k)	6(c)
<b>Israel</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
<b>Italy</b>	0	0	0	0	0	2(b)	0	0	0	0	0	0	48	38(a)	29	7	8	7	2(k)	
<b>Japan</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3(e)	2	4(g)	5	7	10	3(k)	
<b>Liechtenstein</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2(a)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<b>Luxembourg</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0(k)	
<b>Netherlands</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	20	24	19	6	3	2		
<b>Poland</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4(f)	5	11	19	10	7(k)	
<b>Portugal</b>	0	1(b)	1(b)	1(b)	3(b)	12	15	31	30	127	159	149(a)	110	86	133	92(a)	46	33		
<b>Slovakia</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	6	2	7	3	0		
<b>Slovenia</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	2(a)	1	1	1(k)	
<b>Spain</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	82	127	167	137	98	68	26(k)	
<b>Sweden</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1		
<b>Switzerland</b>	0	2	8	15	29	64	68	45	38	14	50	33(d)	42	24	21(g)	3	3(i)	5	0	
<b>United Kingdom</b>	see particular table																			
<b>United States of America</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0(k)	

\* Cases are shown by year of confirmation.  
... Not available

(a) Canada: 1 case diagnosed in Canada in May 2003 + 1 case diagnosed in the United States of America in December 2003 and confirmed as having been imported from Canada.

Finland: date of confirmation of the case: 7 December 2001.

France: includes 1 imported case (confirmed on 13 August 1999).

Ireland: includes imported cases: 5 in 1989, 1 in 1990, 2 in 1991 and 1992, 1 in 1994 and 1995.

Italy: includes 2 imported cases.

Liechtenstein : date of the last confirmation of a case: 30 September 1998.

Portugal: includes 1 imported case.

Slovenia: includes 1 imported case.

(b) Imported case(s).

(c) Canada – Data as of 26 February 2008.

Ireland – Data as of 31 March 2008. Cases detected by the passive surveillance programme = 1. Cases detected by the active surveillance programme = 5.

(d) France year 2000 – Clinical cases = 101. Cases detected within the framework of the research programme launched on 8 June 2000 = 60.

Ireland year 2000 – Clinical cases = 138. Cases identified by active surveillance of at risk cattle populations = 7. Cases identified by examination of depopulated BSE positive herds, birth cohorts and progeny animals = 4.

Switzerland year 2000 – Clinical cases = 17. Cases detected within the framework of the investigation programme = 16.

(e) France year 2001 – Clinical cases = 91. Cases detected at rendering (bovines at risk) = 100 (out of 139,500 bovines tested). Cases detected as result of routine screening at the abattoir = 83 (out of 2,373,000 bovines tested).

Ireland year 2001 – Clinical cases = 123. Cases identified by systematic active surveillance of all adult bovines = 119. Cases identified by examination of depopulated BSE positive herds, birth cohorts and progeny animals = 4.

Japan year 2001 – Clinical cases = 1. Cases detected as result of screening at the abattoir = 2.

(f) France year 2002 – Clinical cases = 41. Cases detected at rendering (bovines at risk) = 124 (out of 274,143 bovines tested). Cases detected as result of systematic screening at the abattoir = 74 (out of 2,915,103 bovines tested). The active BSE surveillance programmes implemented in France in 2002 led to routine examination of cattle aged over 24 months, which were slaughtered for consumption purposes, were euthanised or died due to other reasons.

Ireland year 2002 – Clinical cases = 108. Cases detected by the active surveillance programme = 221. Cases identified by examination of depopulated BSE positive herds, birth cohorts and progeny animals = 4.

Poland year 2002 – Clinical cases = 1. Cases detected as result of routine screening at the abattoir (cattle over 30 months) = 3.

(g) France year 2003 – Clinical cases = 13. Cases detected at rendering (bovines at risk) = 87. Cases detected as result of systematic screening at the abattoir = 37.

Japan year 2003 – The 9th case was a bullock aged 21 months.

Ireland year 2003 – Clinical cases = 41. Cases detected by the active surveillance programme = 140.

Switzerland year 2003 – Clinical cases: 8. Cases detected within the framework of the official surveillance programme: 11. Cases detected through voluntary testing following routine slaughter: 2.

(h) France year 2004 – Clinical cases = 8. Cases detected at rendering (bovines at risk) = 29. Cases detected as result of systematic screening at the abattoir = 17.

Ireland year 2004 – Clinical cases = 31. Cases detected by the active surveillance programme = 94.

Cases identified by examination of depopulated BSE positive herds, birth cohorts and progeny animals = 1.

(i)

Ireland year 2005 – Cases detected by the passive surveillance programme = 13. Cases detected by the active surveillance programme = 56.

Switzerland year 2005 – Cases detected by the passive surveillance programme = 1. Cases detected

within the framework of the official surveillance programme: 1. Cases detected through voluntary testing following routine slaughter = 1.

(j) Ireland year 2006 - Cases detected by the passive surveillance programme = 5. Cases detected by the active surveillance programme = 36.

(k) Greece - Data as of 30 June 2007.

Ireland year 2007 - Cases detected by the passive surveillance programme = 5. Cases detected by the active surveillance programme = 20.

Italy - Data as of 30 June 2007.

Japan - Data as of 21 December 2007.

Luxembourg - Data as of 30 June 2007.

Poland - Data as of 20 December 2007.

Slovenia - Data as of 30 June 2007.

Spain - Data as of 30 June 2007.

United States of America - Data as of 30 June 2007.

[\[top\]](#)

*Last update : 31-Mar-2008 (fr)*

Copyright © 2008 OIE - World Organisation for Animal Health, 12 rue de Prony 75017 Paris (France)

Tel: +33 (0)1 44 15 18 88 - Fax: +33 (0)1 42 67 09 87 - Email: [oi@oie.int](mailto:oi@oie.int)

## 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 2008. 3. 5	新医薬品等の区分 該当なし	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	OIE - World Organisation for Animal Health. Available from: URL: <a href="http://oie.int/eng/info/en_esbru.htm">http://oie.int/eng/info/en_esbru.htm</a>	公表国	OIE
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)				
研究報告の概要	○英国の畜牛におけるウシ海綿状脳症(BSE)症例の報告数 1987年以前から2008年(3月現在)までに、英国から国際獣疫事務局(OIE)に報告されたウシ海綿状脳症の報告数である。2007年にはグレートブリテン島で53頭、北アイルランドで14頭の計67頭が報告された。2008年には、これまでにグレートブリテン島で10頭の症例が報告されている。			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			
1987年以前から2008年(3月現在)までに、英国から国際獣疫事務局(OIE)に報告されたウシ海綿状脳症の報告数である。英国では、1992年の37,280例をピークに流行は収束しつつある。		日本赤十字社は、vCJDの血液を介する感染防止の目的から、献血時に過去の海外渡航歴(旅行及び居住)を確認し、欧州36ヶ国に一定期間滞在したドナーを無期限に献血延期としている。また、英国滞在歴を有するvCJD患者が国内で発生したことから、平成17年6月1日より1980~96年に1日以上英国滞在歴のある方からの献血を制限している。今後もCJD等プリオン病に関する新たな知見及び情報の収集に努める。			



defined

JRC2008T-019

- Number of cases in the United Kingdom ■ Number of reported cases worldwide (excluding the United Kingdom)
- Cases in imported animals only ■ Annual incidence rate

## Number of cases of bovine spongiform encephalopathy (BSE) reported in the United Kingdom <sup>(1)</sup>

	Alderney	Great Britain	Guernsey <sup>(3)</sup>	Isle of Man <sup>(2)</sup>	Jersey	Northern Ireland	Total United Kingdom
1987 and before <sup>(4)</sup>	0	442	4	0	0	0	446
1988 <sup>(4)</sup>	0	2 469	34	6	1	4	2 514
1989	0	7 137	52	6	4	29	7 228
1990	0	14 181	83	22	8	113	14 407
1991	0	25 032	75	67	15	170	25 359
1992	0	36 682	92	109	23	374	37 280
1993	0	34 370	115	111	35	459	35 090
1994	2	23 945	69	55	22	345	24 438
1995	0	14 302	44	33	10	173	14 562
1996	0	8 016	36	11	12	74	8 149
1997	0	4 312	44	9	5	23	4 393
1998	0	3 179	25	5	8	18	3 235
1999	0	2 274	11	3	6	7	2 301
2000	0	1 355	13	0	0	75	1 443
2001	0	1,113	2	0	0	87	1,202
2002	0	1,044	1	0	1	98	1,144
2003	0	549	0	0	0	62	611
2004	0	309	0	0	0	34	343
2005	0	203	0	0	0	22	225
2006	0	104	0	0	0	10	114
2007	0	53	0	0	0	14	67
2008 <sup>(5)</sup>	0	10	0	0	0	0	10

(1) Cases are shown by year of restriction.

(2) In the isle of Man BSE is confirmed on the basis of a laboratory examination of tissues for the first case on a farm and thereafter by clinical signs only. However, all cases in animals born after the introduction of the feed ban have been subjected to histopathological/scrapie-associated fibrils analysis. To date, a total of 277 animals have been confirmed on clinical grounds only.

(3) In Guernsey BSE is generally confirmed on the basis of clinical signs only. To date, a total of 600 animals have been confirmed without laboratory examination.

(4) Cases prior to BSE being made notifiable are shown by year of report, apart from cases in Great Britain which are shown by year of clinical onset of disease.

(5) Data as of 31 March 2008.

[top]

Last update : 17-Avr-2008 (fr)

Copyright © 2008 OIE - World Organisation for Animal Health, 12 rue de Prony 75017 Paris (France)

Tel: +33 (0)1 44 15 18 88 - Fax: +33 (0)1 42 67 09 87 - Email: [ole@oie.int](mailto:ole@oie.int)



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 2008年2月18日	新医薬品等の区分 該当なし	厚生労働省処理欄
一般的名称	①乾燥抗 HBs 人免疫グロブリン ②ポリエチレングリコール処理抗 HBs 人免疫グロブリン	研究報告の 公表状況	Transfusion 2008; 48(2): 286-294	公表国 日本		
販売名 (企業名)	①ヘブスプリン (ベネシス) ②静注用ヘブスプリン-IH (ベネシス)					
研究報告の概要	<p>【背景】 HBV 血液スクリーニングの最適な戦略を計画するには、最小感染価と HBV の初期動態を測定し、HBs 抗原に加えて HBV DNA についてのウインドウ期間を明確にすることが必要である。</p> <p>【研究デザイン及び方法】 最小感染価を求めるために、遺伝型 A、または遺伝型 C の HBV を含む急性期前の接種株をそれぞれチンパンジー 1 対に接種するとともに、遺伝型 A と遺伝型 C の HBV の最小感染価を接種した 2 対のチンパンジーについて HBV マーカーを追跡調査した。</p> <p>【結果】 遺伝型 A および遺伝型 C の 50%チンパンジー感染価 (CID50) は、約 10 コピーであると推定された。最小感染価を接種された 2 頭のチンパンジーにおいて、HBV DNA のウインドウ期は、遺伝型 A および遺伝型 C でそれぞれ 55-76 日及び 35-50 日であった。HBsAg のウインドウ期は、遺伝型 A 及び遺伝型 C でそれぞれ 69-97 日及び 50-64 日であった。HBV DNA のダブリングタイムは、遺伝型 A 及び遺伝型 C でそれぞれ 3.4 日及び 1.9 日であった。この 2 つの遺伝型の間での HBV DNA の複製速度を比較すると、遺伝型 C のダブリングタイムは遺伝型 A よりも著しく短かった。</p> <p>【結論】 CID50 は約 10 コピーで 2 つの遺伝型で類似していたが、ダブリングタイムおよび最小感染価に感染したチンパンジーにおける HBV NAT ウインドウ期間 (&lt;100 コピー/mL) は、遺伝型 A よりも遺伝型 C が短いようであった。</p>					<p>使用上の注意記載状況・ その他参考事項等</p> <p>代表として静注用ヘブスプリン-IH の記載を示す。</p> <p>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、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高力価の抗 HBs 抗体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 HBs 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ろ過膜処理 (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。</p>
	報告企業の意見				今後の対応	
<p>チンパンジーにおける HBV の遺伝型 A と遺伝型 C の最小感染価、初期動態 (ダブリングタイム、ウインドウ期) に関する報告である。</p> <p>万一、原料血漿に HBV が混入したとしても、BVD 及び BHV 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と考えるので、特段の措置はとらない。</p>		

3



# TRANSFUSION COMPLICATIONS

## Minimum infectious dose of hepatitis B virus in chimpanzees and difference in the dynamics of viremia between genotype A and genotype C

*Yutaka Komiya, Keiko Katayama, Hisao Yugi, Masaaki Mizui, Harumichi Matsukura, Tetsushi Tomoguri, Yuzo Miyakawa, Ayako Tabuchi, Junko Tanaka, and Hiroshi Yoshizawa*

**BACKGROUND:** In planning optimal hepatitis B virus (HBV) blood screening strategies, the minimum infectious dose and early dynamics of HBV need to be determined for defining the window period for HBV DNA as well as for hepatitis B surface antigen (HBsAg).

**STUDY DESIGN AND METHODS:** Pairs of chimpanzees were inoculated with preacute-phase inocula containing HBV of genotype A or genotype C to determine the minimum infectious dose, and two pairs of chimps infected with the lowest infectious dose of genotypes A and C were followed for HBV markers.

**RESULTS:** The minimum 50 percent chimpanzee infectious dose (CID<sub>50</sub>) was estimated to be approximately 10 copies for genotype A and for genotype C. In the two chimps inoculated with the lowest infectious dose, the HBV DNA window was 55 to 76 days for genotype A and 35 to 50 days for genotype C, respectively. The HBsAg window was 69 to 97 days for genotype A and 50 to 64 days for genotype C, respectively. The doubling times of HBV DNA were 3.4 days (95% confidence interval [CI], 2.6-4.9 days) for genotype A and 1.9 days (95% CI, 1.6-2.3 days) for genotype C. When comparing the replication velocity of HBV DNA between the two genotypes, the doubling time of genotype C was significantly shorter than that of HBV genotype A ( $p < 0.01$ ).

**CONCLUSION:** Although the CID<sub>50</sub> of approximately 10 copies was similar for the two HBV genotypes, the doubling time and pre-HBV nucleic acid amplification technology (<100 copies/mL) window period in chimps infected with the lowest infectious dose seemed to be shorter for genotype C than for genotype A.

Posttransfusion infection with hepatitis B virus (HBV) has decreased dramatically since screening for hepatitis B surface antigen (HBsAg) was introduced in the early 1970s. The number of reported posttransfusion hepatitis B cases has been further reduced after screening for antibody to HBV core (anti-HBc) was implemented in the late 1980s in the United States and Japan.<sup>1,2</sup> Japan introduced HBV DNA screening by nucleic acid amplification technology (NAT) in minipools (MPs) in 1999. Since introduction of MP-NAT, more than 500 seronegative donations with detectable HBV DNA have been interdicted, although there are still units of blood in an early or late phase of HBV infection

**ABBREVIATIONS:** CID<sub>50</sub> = 50 percent chimpanzee infectious dose; CLIA = chemiluminescent immunoassay; JRC = Japanese Red Cross; MP(s) = minipool(s).

From the Department of Epidemiology, Infectious Disease Control and Prevention, Graduate School of Biomedical Sciences, Hiroshima University, Hiroshima; Primate Park, Sanwa Kagaku Kenkyusho, Ltd, Kumamoto; the Department of NAT, Central Blood Institute, Japanese Red Cross Society, Tokyo; the Department of Laboratory Medicine, Japanese Red Cross Hiroshima Blood Center, Hiroshima; the Department of Research and Development of Reagents, Japanese Red Cross Osaka Blood Center, Osaka; and the Miyakawa Memorial Research Foundation, Tokyo, Japan.

*Address reprint requests to:* Hiroshi Yoshizawa, MD, Department of Epidemiology, Infectious Disease Control and Prevention, Graduate School of Biomedical Sciences, Hiroshima University, Kasumi 1-2-3, Minami-Ku, Hiroshima 734-8551, Japan; e-mail: eidcp@hiroshima-u.ac.jp.

This work was supported in part by grants from the Japanese Ministry of Health, Labor and Welfare.

Received for publication May 7, 2007; revision received July 30, 2007, and accepted August 2, 2007.

doi: 10.1111/j.1537-2995.2007.01522.x

TRANSFUSION 2008;48:286-294.

with low viral load that can escape detection by NAT.<sup>3</sup> Interestingly, the lookback program of the Japanese Red Cross (JRC) demonstrated that low viral load donations in the window phase were more than 10-fold more often implicated in HBV transmission reports than were occult carriers with anti-HBc titers below the exclusion limit of the anti-HBc hemagglutination inhibition screening assay.<sup>3</sup> Bearing in mind the relatively high infectivity of HBV in the window phase, exact knowledge on early dynamics of HBV replication is important for residual risk estimations.<sup>4-7</sup> It will determine the threshold of NAT in identifying blood donors during the preacute phase of HBV infection, which is important for planning and executing evidence-based hepatitis B blood screening strategies.<sup>7,8</sup> In this context, the relative infectivity of HBV in the early window phase is an important factor for measuring the effect of NAT screening systems on the residual risk of HBV transmission by blood transfusion.<sup>7-9</sup>

Chimpanzees are the only experimental animals susceptible to human hepatitis viruses and have been very useful in transmission studies.<sup>10</sup> As early as the mid-1970s, it was demonstrated that blood units from HBV carriers, especially those positive for the presence of hepatitis B e antigen (HBeAg), have a tremendously high infectious potential and can transmit infection to chimps by intravenous inoculation with 1 mL of plasma diluted to 1:10<sup>6</sup>.<sup>11</sup> Now that NAT enables detection of HBV DNA in blood donors even in individual-donation format, it can be estimated by mathematical modeling what the residual risk would be depending on the minimum copy number required for infection.<sup>9</sup> More conservative risk modeling assumes that a single copy of HBV, if it successfully reaches a hepatocyte in susceptible hosts, may be enough to establish infection.<sup>5</sup> To pursue strategies for preventing HBV infections by blood transfusions, additional information on the infectivity of HBV is crucially required. It is imperative to define not only the minimum copy number of HBV DNA or number of virions required for transmission of HBV, but also the early dynamics of HBV replication in the circulation of infected hosts. This can be established more accurately in chimpanzee experiments. In this report on experimental transmission of hepatitis B in chimps, the minimum infectious dose was determined separately for HBV of genotypes A and C, and the copy number of HBV DNA for establishing infection was defined for each of them. Moreover, the doubling time and logarithmic time of HBV DNA were determined by following the viral dynamics in the preacute phase of chimpanzees who had received the minimum infectious dose of HBV.

## MATERIALS AND METHODS

### Chimpanzees

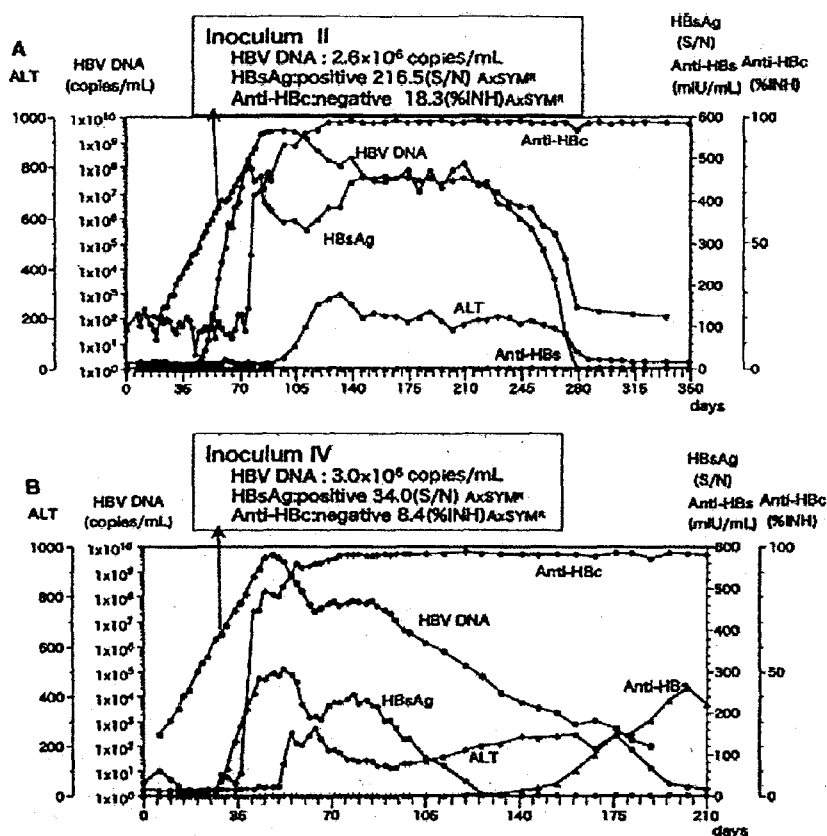
Six chimps entered this study. Their age, sex, and weight, as well as the HBV inocula that they received are listed in Table 1 along with the infection outcome. Every chimp was kept in an individual cage and received humane care in accordance with all relevant requirements for the use of primates in an approved institution. None of the six chimps had serologic or molecular biologic evidence of past or present HBV infection prior to the inoculation. They were also not infected with hepatitis C virus (HCV) and human immunodeficiency virus type-1. Chimps were inoculated intravenously while they were under anesthesia by intramuscular injection with ketamine hydrochloride. After the inoculation, serum samples were obtained once a week or more frequently as required, until 16 weeks or longer. They were tested for HBV DNA, HBsAg, anti-HBc, anti-HBs, and alanine aminotransferase as well as aspartate aminotransferase.

### Inocula containing HBV

The chimpanzees received four kinds of inocula (Table 1). Inocula I and III were fresh-frozen plasma (FFP) units from blood donors acutely infected with HBV genotypes A and C, respectively. Inocula II and IV were plasma samples from chimps infected with inoculum I of genotype A and inoculum III of genotype C, respectively (see Figs. 1A and 1B). Inocula II and IV were: 1) recovered in the preacute phase of HBV infection before immune responses of the host had developed; 2) positive for the presence of HBV DNA in the highest titer before anti-HBc developed; and 3) taken with utmost care to maintain the infectious activity and avoid attenuation during serial processing from blood collection until storage. Immediately after blood drawing

TABLE 1. Six chimpanzees and HBV inocula and HBV infection outcomes

Chimpanzee	Age, sex, weight	HBV DNA copies	Outcome
Inoculum I: FFP from a human donor in the preacute phase of HBV infection of genotype A			
1 Chimp 246	13 years, male, 60.7 kg	1 mL (6.9 × 10 <sup>4</sup> copies/mL)	Infected
Inoculum II: Preacute-phase plasma of Chimp 246 containing HBV (2.6 × 10 <sup>6</sup> copies/mL)			
2 Chimp 272	9 years, male, 58.7 kg	1 mL (1:10 <sup>6</sup> dilution)	Not infected
3 Chimp 279	8 years, male, 51.4 kg	1 mL (1:10 <sup>6</sup> dilution)	Not infected
3 Chimp 279	Reinoculation	1 mL (1:10 <sup>5</sup> dilution)	Infected
4 Chimp 280	8 years, male, 39.4 kg	1 mL (1:10 <sup>5</sup> dilution)	Infected
Inoculum III: FFP from a human donor in the preacute phase of HBV infection of genotype C			
2 Chimp 272	Reinoculation	5 mL (5.3 × 10 <sup>5</sup> copies/mL)	Infected
Inoculum IV: Preacute-phase plasma of Chimp-272 containing HBV (3.0 × 10 <sup>6</sup> copies/mL)			
5 Chimp 269	11 years, male, 62.5 kg	1 mL (1:10 <sup>6</sup> dilution)	Not infected
6 Chimp 285	7 years, male, 41.1 kg	1 mL (1:10 <sup>6</sup> dilution)	Not infected
5 Chimp 269	Reinoculation	1 mL (1:10 <sup>5</sup> dilution)	Infected
6 Chimp 285	Reinoculation	1 mL (1:10 <sup>5</sup> dilution)	Infected



**Fig. 1.** Time course of HBV serum markers in chimps used as a source of inoculation of HBV genotype A and genotype C. (A) Chimp 246 was inoculated with human plasma of HBV genotype A. Inoculum II for chimp infectivity studies was harvested in the ramp-up phase of viremia before anti-HBc seroconversion at the time HBV DNA had reached a concentration of  $2.6 \times 10^6$  copies per mL and the HBsAg response had increased to a signal-to-noise (S/N) ratio of 216.5 (cutoff S/N = 2.0). (B) Chimp 272 was inoculated with human plasma of HBV genotype C. Inoculum IV was harvested in the ramp-up phase of viremia before anti-HBc seroconversion at the time HBV DNA had reached a concentration of  $3.0 \times 10^6$  copies per mL and HBsAg had increased to an S/N ratio of 34.0.

from chimps, plasma samples were separated. They were divided into 15 tubes in 1-mL aliquots, snap-frozen in liquid nitrogen, and kept in a deep freezer at  $-80^{\circ}\text{C}$  until used for transmission experiments. For each experiment, the plasma in one tube was thawed gently by immersing it in a water bath at  $37^{\circ}\text{C}$ , and the required amounts were used.

**Laboratory tests**

HBsAg, anti-HBc, and antibody to HBsAg (anti-HBs) were determined by chemiluminescent immunoassay (CLIA) with commercially available kits (AxSYM, Abbott Japan, KK, Tokyo, Japan), with the index of 2.0 (signal-to-noise [S/N]), 50 percent inhibition, and 5.0 mIU per mL

as cutoff values, respectively. Qualitative assay for HBV DNA was performed by polymerase chain reaction (PCR) with primers deduced from the S region of HBV DNA.<sup>12</sup> HBV DNA was quantitated by the PCR (TaqMan, Roche Diagnostics KK, Tokyo, Japan) with a sensitivity of 100 copies per mL. Quantitative assays for HBV DNA were performed simultaneously for an accurate comparison of data.

**Calculation for doubling time and logarithmic time of HBV DNA**

To calculate the doubling time and the logarithmic time (time for reaching 10 times the amount) of HBV DNA at ramp-up after the infection, HBV DNA copy numbers were evaluated statistically by log linear regression analysis. The comparison of regression slope (the doubling time and the logarithmic time) between HBV genotypes was evaluated by growth curve analysis (Vonesh-Carter-Ohtaki method).<sup>13,14</sup>

**RESULTS**

**Inocula and copy numbers of HBV genotype A or genotype C recovered from chimpanzees in the preacute phase of infection**

Chimp 246 was injected intravenously with 1 mL of FFP from a blood donor in the preacute phase of HBV infection (Table 1); the donor had been screened by NAT at a JRC Blood Center. His plasma sample contained  $6.9 \times 10^4$  copies per mL of HBV DNA genotype A and was positive for the presence of HBsAg but negative for the presence of anti-HBc (inoculum I). Plasma was harvested from Chimp 246, in the preacute phase of HBV infection 57 days after inoculation (inoculum II). It contained  $2.6 \times 10^6$  copies per mL HBV DNA and was positive for the presence of HBsAg but still negative for the presence of anti-HBc and anti-HBs (Fig. 1A).

Likewise, Chimp 272 was injected intravenously with 5 mL of FFP from a blood donor in the preacute phase of HBV infection who had been screened by NAT at JRC (Table 1). It contained  $5.3 \times 10^5$  copies per mL of HBV DNA genotype C and was positive for the presence of HBsAg but negative for the presence of anti-HBc and anti-HBs (inoculum III). Thus, Chimp 272 was inoculated with

$2.7 \times 10^6$  copies of HBV genotype C. The preacute plasma sample was collected from Chimp 272 29 days after challenge (inoculum IV). It contained  $3.0 \times 10^6$  copies per mL HBV DNA and was positive for the presence of HBsAg but still negative for the presence of anti-HBc and anti-HBs (Fig. 1B).

**Estimates of HBV DNA copy numbers in serial 1-in-10-fold dilutions and inocula below the HBV NAT detection limit**

Serial 1-in-10 dilutions of inoculum II of genotype A were prepared in preinoculation serum sample from each chimp (e.g., Chimp 272, Chimp 279, and Chimp 280, respectively). Dilutions were delivered to three tubes each in 1-mL aliquots and snap-frozen in liquid nitrogen. Concentration of HBV DNA was determined in one of the three tubes in each dilution so as to guarantee copy numbers of HBV DNA in the other two vials that were inoculated into chimps. These samples had been stored in a deep freezer at  $-80^\circ\text{C}$  until inoculation.

Table 2 shows the measured HBV DNA concentrations in 1-in-10 dilutions of inoculum II (genotype A). The quantitative HBV DNA results starting from  $2.6 \times 10^6$  copies per mL in the undiluted sample varied between  $2.0 \times 10^5$  to  $2.3 \times 10^5$ ,  $2.0 \times 10^4$  to  $2.4 \times 10^4$ ,  $1.6 \times 10^3$  to  $2.0 \times 10^3$ , and  $1.7 \times 10^2$  to  $2.8 \times 10^2$  copies per mL, respectively, in the 1:10, 1:10<sup>2</sup>, 1:10<sup>3</sup>, and 1:10<sup>4</sup> dilutions. These quantitative results are an indication of the accuracy of the dilution and assay procedure. On the premise that dilutions beyond 1:10<sup>4</sup> had been performed properly, further dilutions to 1:10<sup>5</sup> and 1:10<sup>6</sup> would have contained 16 to 28 and 1.6 to 2.8 HBV DNA copies per mL (ranges estimated by variations of HBV DNA measurements in lower dilutions), respectively, although they were below the detection limit of the PCR method used.

Likewise, serial 1-in-10 dilutions of inoculum IV (genotype C) were prepared in the plasma sample from Chimp 269 and Chimp 285. HBV DNA in  $3.0 \times 10^6$ ,  $3.5 \times 10^5$  to  $3.8 \times 10^5$ ,  $3.6 \times 10^4$  to  $3.9 \times 10^4$ ,  $3.6 \times 10^3$  to  $4.6 \times 10^3$ , and  $4.3 \times 10^2$  to  $4.6 \times 10^2$  copies per mL were detected in the original serum samples at 1:10, 1:10<sup>2</sup>, 1:10<sup>3</sup>, and 1:10<sup>4</sup> dilutions thereof, respectively (Table 3). Thus, further experiments were performed on the assumption that serial dilutions of 1:10<sup>5</sup> and 1:10<sup>6</sup> of inoculum IV would have contained 35 to 46 and 3.5 to 4.6 HBV DNA copies per mL, respectively.

**Determination of the minimum copy number required for transmission of HBV genotype A or genotype C to chimpanzees**

When Chimp 272 and Chimp 279 were inoculated intravenously with 1.0 mL of inoculum II diluted 1:10<sup>6</sup> (equivalent to 1.6 to 2.8 copies of HBV DNA in an in vitro assay), HBV infection did not develop in either of them during monitoring for 119 days (17 weeks) and thereafter. Chimp 279 was then rechallenged with 1.0 mL of inoculum II diluted 1:10<sup>5</sup> (equivalent to 16-28 copies). He then became infected and developed HBV DNA in his serum 55 days (8 weeks) after the inoculation. Chimp 280 was also inoculated intravenously with 1.0 mL of inoculum II diluted 1:10<sup>5</sup> (equivalent to 16 to 28 copies of HBV DNA). He developed HBV DNA in the circulation 76 days (11 weeks) after infection. In view of the incubation period of 55 to 76 days (8-11 weeks) for 1:10<sup>5</sup> dilution of inoculum II, HBV infection would probably not have occurred in chimps who received 1:10<sup>6</sup> dilution if they had been followed longer than 119 days (17 weeks).

Chimp 269 and Chimp 285 were inoculated with 1.0 mL of inoculum IV diluted 1:10<sup>6</sup> (equivalent to 3.5-4.6 copies of HBV DNA in an in vitro assay). During follow-up

**TABLE 2. Quantification of HBV DNA in serial 1-in-10 dilutions of the standard serum for HBV genotype A (inoculum II)\***

Chimpanzee	Undiluted	Serial dilutions in preinoculation serum samples of each chimpanzee					
		1:10	1:10 <sup>2</sup>	1:10 <sup>3</sup>	1:10 <sup>4</sup>	1:10 <sup>5</sup>	1:10 <sup>6</sup>
272	$2.6 \times 10^6$	$2.3 \times 10^5$	$2.0 \times 10^4$	$2.0 \times 10^3$	$1.7 \times 10^2$	Not done	<100
279	$2.6 \times 10^6$	$2.0 \times 10^5$	$2.4 \times 10^4$	$2.0 \times 10^3$	$2.4 \times 10^2$	<100	<100
280	$2.6 \times 10^6$	$2.3 \times 10^5$	$2.3 \times 10^4$	$1.6 \times 10^3$	$2.8 \times 10^2$	<100	Not done

\* Data are reported as copies per mL.

**TABLE 3. Quantification of HBV DNA in serial 1-in-10 dilutions of the standard serum for HBV genotype C (inoculum IV)\***

Chimpanzees	Undiluted	Serial dilutions in preinoculation serum of each chimpanzee					
		1:10	1:10 <sup>2</sup>	1:10 <sup>3</sup>	1:10 <sup>4</sup>	1:10 <sup>5</sup>	1:10 <sup>6</sup>
Chimp 269	$3.0 \times 10^6$	$3.8 \times 10^5$	$3.9 \times 10^4$	$3.6 \times 10^3$	$4.6 \times 10^2$	<100	<100
Chimp 285	$3.0 \times 10^6$	$3.5 \times 10^5$	$3.6 \times 10^4$	$4.6 \times 10^3$	$4.3 \times 10^2$	<100	<100

\* Data are reported as copies per mL.

for 112 days (16 weeks), however, no HBV infection occurred in either of them. Subsequently, they were rechallenged with 1.0 mL of inoculum IV diluted 1:10<sup>5</sup> (equivalent to 35-46 copies of HBV DNA) 17 weeks after the initial inoculation. They developed HBV DNA in the circulation 35 and 50 days thereafter, respectively, indicating that both of them were infected. Therefore, the 50 percent chimp infectious dose (CID<sub>50</sub>) for both genotype A and genotype C lies between the lowest infectious dose of approximately 30 copies and the subinfectious dose of approximately 3 copies or at approximately 10 HBV DNA copies.

HBV infection resolved in all six chimps and they never became carriers. Within a few weeks after the peak

HBV DNA titer was reached, serum levels of transaminase increased slightly, within 3 times the upper limit of normal.

**Replication velocity of HBV DNA in the preacute phase of infection**

*Doubling time and logarithmic time of HBV genotype A*  
 Figure 2A illustrates the appearance of HBV genotype A in the circulation, when HBV DNA reached more than 10<sup>2</sup> copies per mL, as well as its early dynamics in Chimp 246, Chimp 279, and Chimp 280 during the preacute phase of exponential replication. HBV DNA emerged in the circulation earlier in Chimp 246 than the other two chimps, but

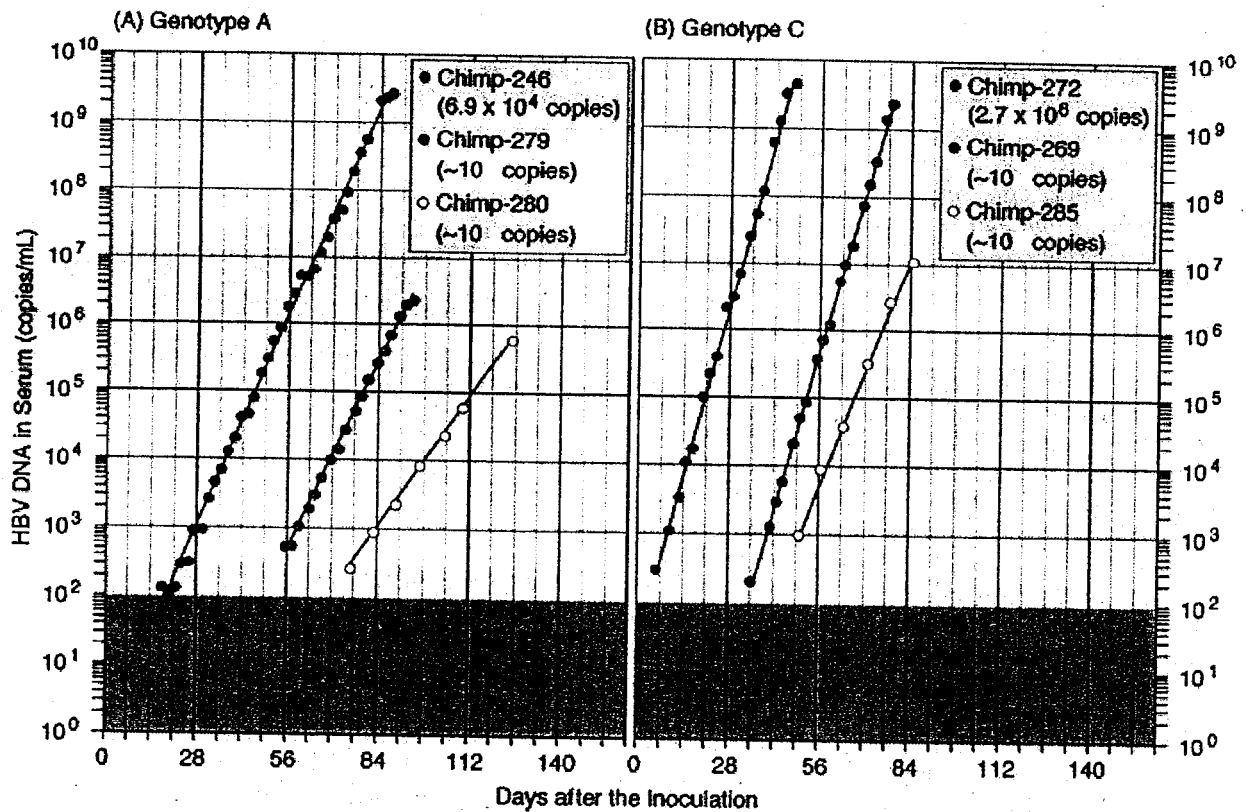


Fig. 2. Log-linear increase of HBV DNA in the circulation of chimpanzees during the early exponential replication phase. (A) Dynamics in the early ramp-up phase of viral DNA for three chimps inoculated with HBV genotype A: one chimp (Chimp 246) received 1 mL of human plasma containing  $6.9 \times 10^4$  copies and the other two chimps (Chimps 279 and 280) received 1 mL of a 100,000 dilution of chimp plasma taken in the HBsAg ramp-up phase just before appearance of anti-HBc, which dilution contains a measured amount of 16 to 28 copies. (B) Graph summarizes the viral load dynamics for three chimpanzees inoculated with HBV genotype C: one chimp (Chimp 272) received 5 mL of human plasma with  $2.7 \times 10^6$  copies of HBV DNA and the two other chimps (Chimps 269 and 285) received a measured amount of 35 to 46 copies (1:100,000 dilution) of preacute-phase chimpanzee plasma. Shaded areas are below the detection limit of NAT (<100 copies/mL). Only the phase of exponential replication is shown, and HBV DNA decreased after it reached peak values of  $5.7 \times 10^5$  to  $2.8 \times 10^9$  copies per mL in three chimps inoculated with HBV genotype A and  $1.1 \times 10^7$  to  $4.6 \times 10^9$  copies per mL in three chimps inoculated with HBV genotype C.

this animal had received more than a 1000-fold larger amount of copies of HBV than the other two chimps. Despite the 1000-fold higher infectious dose, the log-linear increase of HBV DNA in Chimp 246 was the same as in Chimp 279, who had received the minimum infectious dose. In Chimp 246, HBV DNA replicated exponentially from 21 to 97 days (3-13 weeks) until it peaked and then declined. Even though the same minimum infectious dose of HBV was inoculated, Chimp 279 developed detectable HBV DNA about 21 days (3 weeks) earlier than Chimp 280, in whom HBV replicated slightly slower. Despite differences in HBV doses and individual variation, the replication velocity was constant for HBV genotype A in the preacute phase of infection, before innate immune responses of the host developed, while the virus replicated at an exponential rate. The doubling time and the logarithmic time, in the early exponential viral replication phase, were calculated to be 2.7 to 4.4 and 9.0 to 14.7 days, respectively (see Table 4).

**Doubling time and logarithmic time of HBV genotype C**  
The replication velocity in the preacute phase of infection in chimpanzees inoculated with genotype C inocula was faster than in the chimps infected with HBV of genotype A (Fig. 2B). Again, slight variation in log-linear increase of HBV DNA was found, and HBV DNA appeared in serum earlier in Chimp 272 who was inoculated with a 100,000-fold higher infectious dose than was administered to Chimps 269 and 285. As seen in the chimps inoculated with HBV genotype A, HBV genotype C increased in a log-linear fashion in the absence of host immune responses. Doubling times of HBV DNA in the circulation of Chimp 272, Chimp 269, and Chimp 285 were calculated to be 1.7 to 2.5 days and logarithmic times were 5.6 to 8.3 days as determined with the regression formula shown in Table 4.

When comparing the replication velocity of HBV DNA between the two genotypes estimated by a growth curve, the difference was significant ( $p < 0.01$ , Table 5). That is, the doubling time of replications of HBV DNA with genotype A was estimated to be 3.44 days (95% confidence interval [CI], 2.64-4.89 days) and the logarithmic time was estimated to be 11.42 days (95% CI, 8.80-16.26 days). By contrast, those with HBV genotype C were estimated to be 1.90 days (95% CI, 1.63-2.27 days) and 6.30 days (95% CI, 5.41-7.54 days), respectively.

**TABLE 4. Estimated doubling times and logarithmic times for HBV genotypes A and C with log-linear and growth-curve analysis**

Genotype	Doubling time (days)	Logarithmic time (days)	y = a × exp(b × x)		
			a	b	R <sup>2</sup>
<b>Genotype A</b>					
Chimp 246	2.71	9.01	0.8491	0.2556	0.997
Chimp 279	3.05	10.14	0.0015	0.2271	0.998
Chimp 280	4.43	14.73	0.0022	0.1563	0.999
<b>Genotype C</b>					
Chimp 272	1.68	5.58	0.2074	0.413	0.998
Chimp 269	1.79	5.96	0.0002	0.3863	0.999
Chimp 285	2.5	8.31	0.0009	0.2771	0.997

**TABLE 5. Comparing the replication velocity of HBV DNA between the two genotypes estimated by a growth curve**

Genotype	Doubling time (95% CI), days	Logarithmic time (95% CI), days	y = a × exp(b × x)		
			a*	b (95% CI)	p Value
A	3.44 (2.64-4.89)	11.42 (8.80-16.26)	2.299	0.2017 (0.14-0.26)	<0.01
C	1.9 (1.63-2.27)	6.3 (5.41-7.54)	2.299	0.3654 (0.31-0.43)	

\* To evaluate the difference of "b" (that is, slope) between the two genotypes, the growth curve model is assuming that "a" is identical.<sup>13</sup>

**TABLE 6. Window periods before HBV DNA and HBsAg developed in the circulation of chimpanzees inoculated with the minimum infectious dose of genotype A or genotype C**

HBV inoculated	Chimp infected	Markers of HBV infection	
		HBV DNA (days)	HBsAg (days)
Genotype A	279	55	69
	280	76	97
Genotype C	269	35	50
	285	50	64

**Window periods of HBV DNA and HBsAg in chimpanzees inoculated with the minimum infectious dose of HBV**

After inoculation, the time before HBV DNA becomes detectable in the circulation by the single-sample NAT (with a sensitivity of 10<sup>2</sup> copies/mL) and the time before HBsAg was detected by CLIA after inoculation are listed in Table 6. The HBV DNA (<100 copies/mL) NAT window was 55 and 76 days, respectively, in Chimp 279 and Chimp 280 inoculated with the lowest infectious dose of HBV genotype A (approx. 30 copies). These NAT window periods were longer than the 35 and 50 days, respectively, found in Chimp 269 and Chimp 285 inoculated with the lowest infectious amounts of HBV genotype C (approx. 30 copies). Likewise, the HBsAg window was longer in Chimp 279 and Chimp 280 infected with genotype A than in Chimp 269 and Chimp 285 infected with genotype C (69 and 97 days, respectively, vs. 50 and 64 days, respectively).



## DISCUSSION

Animal models sensitive to human hepatitis viruses offer robust advantages in obtaining basic data of viral infectivity.<sup>10</sup> By experimental infection of chimps with HCV, we have been able to determine the minimum infectious dose of HCV required for establishing infection.<sup>15,16</sup> The doubling time of HCV was determined to be 6.3 to 8.6 hours in two chimps inoculated with the minimum infectious dose of approximately 10 copies of HCV RNA. During the first 5 days after inoculation, HCV RNA did not increase above the NAT detection limit of  $10^2$  copies per mL in the circulation.<sup>16</sup> It would not be possible to detect HCV infection during the initial few days after exposure, even if 1-mL samples were used for individual NAT.

In this study, we have determined the minimum infectious dose for two standardized inocula containing defined copy numbers of HBV DNA. They were plasma passages of HBV in chimps harvested during the preacute phase of infection and had been processed with the utmost care for maintaining infectious activity. The minimum infectious dose of HBV or the dose where 50 percent of the chimps would be infected lies between 1-in-1 million and 1-in-100,000 dilution of the original inocula and is estimated to be of the order of 10 copies, as was the case for HCV.<sup>15</sup> On the basis of HBV DNA concentrations measured in serial dilutions of inocula (Tables 2 and 3), the minimum infectious dose can be determined to be 16 to 28 copies for HBV genotype A and 35 to 46 copies for HBV genotype C.

There are two definitions of the minimum infectious dose of HBV. Theoretically, it is a single copy of HBV. Not all HBV virions entering the circulation of recipients, however, will succeed in reaching hepatocytes, because some of them are phagocytized by circulating macrophages and Kupffer cells in the sinusoids of the liver. In a mathematical window-phase risk model, Weusten and colleagues<sup>9</sup> have proposed a minimum infectious dose approximately 10 copies of HBV, on the basis of the  $CID_{50}$ .<sup>17-19</sup> Recently the inocula derived from chronic HBV carriers used in older chimpanzee studies<sup>17,18</sup> were requantified by Hsia and coworkers<sup>20</sup> with real-time TaqMan PCR. The estimated HBV copy number per  $CID_{50}$  (geq) was 169 for genotype A *adu*, 78 for genotype D *ayu*, and 3 for genotype C *adr*, calculated by mathematical division, respectively. These viral load data, performed on cryopreserved aliquots from an inocula derived from a chronic HBV carrier (i.e., HBsAg- and anti-HBc-positive), were derived retrospectively several decades after the chimp titration studies. These results are different from the results obtained in our study, where the inocula was derived from the early ramp-up phase of viremia (HBsAg is positive but anti-HBc is negative) and the chimp titration and viral load analyses were performed prospectively.

Hence, the minimum infectious dose defined as a single copy, proposed on a theoretical basis, would deserve revisiting in practical HBV infections. The window period of HBV infection changes with the size of the inoculum. The more copies of HBV inoculated therefore the shorter the incubation period in experimental transmission studies in chimps.<sup>11</sup> An inverse correlation is reported, also, between time before HBsAg appears in serum and the HBV dose in human beings.<sup>21</sup> In accordance with these reports, we also found that the NAT window was shorter in chimps receiving larger sizes of inocula both for genotypes A and C (Fig. 2). The NAT (<100 copies/mL) window period was approximately 1 week with an inoculum of  $2.7 \times 10^6$  copies of genotype C, approximately 3 weeks with  $6.9 \times 10^4$  copies of genotype A, 5 to 7 weeks when inoculating 35 to 46 copies of genotype C, and 8 to 11 weeks when inoculating 16 to 28 copies of HBV genotype A, while no infection was observed during 16 to 17 weeks of observation with an inocula of approximately 3 copies of genotype A or B. Theoretically, HBV infection might have become detectable after 17 weeks, but this is unlikely when extrapolating the data above. Inoculation with HBV in large amounts, as happens with transfusion with HBsAg-positive blood units, has been largely excluded since introduction of HBsAg testing in 1972. Barker and Murray<sup>21</sup> have shown that inoculation of lower infectious doses of HBV in the range of  $10^4$  to  $10^7$  diluted icteric plasma no longer caused clinical hepatitis in healthy individuals, while infection still occurred with up to a  $10^7$  diluted inoculum, as detected by an HBsAg complement fixation test. Our study showed that HBV DNA levels increase  $6.5 \times 10^3$  to  $2.2 \times 10^5$  copies per mL at the time of the first HBsAg-reactive sample in six chimpanzees in whom blood samples were taken at intervals of 2 to 7 days. These amounts are enough to cause clinical hepatitis B.<sup>21</sup> Indeed, Satake and coworkers<sup>3</sup> found that transmission of 5,000 to 50,000 copies of HBV by blood components with a low viral load in the pre-MP-NAT window phase could cause clinical hepatitis B. Transfusion-transmitted HBV after introduction of individual-donation or small-pool NAT (<10) is still possible, but would involve relatively low infectious doses of HBV of approximately 10 to 100  $CID_{50}$ .

In the chimps inoculated with approximately 30 copies of HBV, the NAT window was determined by individual-donation NAT having a sensitivity of  $10^2$  copies per mL, while the HBsAg window was established by CLIA with the highest sensitivity presently available.<sup>5,12</sup> The NAT window was 55 to 76 days and HBsAg window was 69 to 97 days, respectively, in Chimp 279 and Chimp 280 who had been inoculated with approximately 30 copies of HBV genotype A. In contrast, the NAT window was 35 to 50 days and the HBsAg window was 50 to 64 days, respectively, for Chimp 269 and Chimp 285 inoculated with approximately 30 copies of HBV genotype C. Thus, neither

the NAT nor the HBsAg window phases overlapped between minimum-dose infections of HBV genotypes A and C; they were longer for genotype A than genotype C. It may be that the NAT window is longer for genotype A, prevalent in Western countries, than genotype C common in Japan. It cannot be excluded, however, that the results observed in our inoculation studies with a limited number of chimpanzees were influenced by the host rather than the genotype of the virus. The duration of the NAT and HBsAg windows are influenced at least by three factors: 1) the infectious dose, 2) individual variation among recipients, and 3) distinct HBV genotypes.

We found the replication velocity of HBV in the preacute phase of infection remarkably different between genotypes A and C. From three chimps infected with HBV genotype A, the doubling time was estimated to be 3.44 days (95% CI, 2.64-4.89 days) and the logarithmic time 11.42 days (95% CI, 8.80-16.26 days). From three chimps infected with HBV genotype C, the doubling time was estimated to be 1.90 days (95% CI, 1.63-2.27 days), and the logarithmic time 6.30 days (95% CI, 5.41-7.54 days). Also in chimeric mice with the liver replaced by human hepatocytes, genotype A was found to replicate much slower than genotype C in the initial weeks of HBV infection.<sup>22</sup>

The replication velocity of HBV in the circulation, indicated by the viral doubling time, is an important factor when calculating the window-period reduction provided by NAT screening systems. Biswas and colleagues<sup>5</sup> calculated a doubling time of 2.56 days (95% CI, 2.24-2.97 days) based on a seroconversion panel of 23 HBV infections. Yoshikawa et al.<sup>4</sup> followed 93 donors in preacute phase HBV infections who had been identified by the routine NAT screening program on 50-MPs at JRC Blood Centers. They estimated a median doubling time of HBV at 2.6 days (range: 1.3-15.2).

Kleinman and Busch<sup>7</sup> have assessed the HBsAg window period based on the HBV doubling time of 2.56 days documented by Biswas and colleagues.<sup>5</sup> They estimated an HBsAg window at 38.3 days (95% CI, 33.0-43.7 days) by the CLIA HBsAg seroconversion point at a concentration of 1650 copies per mL, while Minegishi and coworkers<sup>12</sup> determined the HBsAg seroconversion point at 2100 copies per mL. We found the HBsAg seroconversion with AxSYM occurred when the HBV DNA concentration reached a level of  $6.5 \times 10^3$  to  $2.2 \times 10^5$  in six chimpanzees. The differences in HBV levels at HBsAg seroconversion in CLIA may be related to the genotype, but also could reflect differences in the calibration of HBV quantitative assays in genome copies.

It is not known if the chimpanzee model is as susceptible for HBV infection as human beings. As a result, the minimum dose of HBV for transmitting infection to man is, in fact, not precisely known. Nevertheless, a minimum human infectious dose of approximately 10 HBV DNA copies, as indicated by our chimpanzee infectivity experi-

ments, seems a reasonable assumption for modeling the HBV transmission risk in the pre-HBV-NAT window period.

#### ACKNOWLEDGMENTS

We thank members of two Japanese Red Cross Blood Centers for providing us with plasma samples in the HBsAg window and staff of Primate Park, Sanwa Kagaku Kenkyusho, in Kumamoto for caring for the chimps used in this study. We thank Dr Nico Lelie for his assistance in preparing the manuscript and thank Prof. Megu Ohtaki for his advice in analyzing the statistical difference of slopes in two genotypes. This work has been conducted as a part of viral hepatitis research by the taskforce under the auspices of the Ministry of Health, Labor and Welfare of Japan.

#### REFERENCES

1. Japanese Red Cross Non-A, Non-B Hepatitis Research Group. Effect of screening for hepatitis C virus antibody and hepatitis B virus core antibody on incidence of post-transfusion hepatitis. *Lancet* 1991;338:1040-1.
2. Kojima M, Shimizu M, Tsuchimochi T, Koyasu M, Tanaka S, Iizuka H, Tanaka T, Okamoto H, Tsuda F, Miyakawa Y, Mayumi M. Posttransfusion fulminant hepatitis B associated with precore-defective HBV mutants. *Vox Sang* 1991; 60:34-9.
3. Satake M, Taira R, Yugi H, Hino S, Kanemitsu K, Ikeda H, Tadokoro K. Infectivity of blood components with low HBV-DNA levels identified in a look back program. *Transfusion* 2007;47:1197-205.
4. Yoshikawa A, Gotanda Y, Itabashi M, Minegishi K, Kanemitsu K, Nishioka K. HBV NAT positive [corrected] blood donors in the early and late stages of HBV infection: analyses of the window period and kinetics of HBV DNA. *Vox Sang* 2005;88:77-86.
5. Biswas R, Tabor E, Hsia CC, Wright DJ, Laycock ME, Fiebig EW, Peddada L, Smith R, Schreiber GB, Epstein JS, Nemo GJ, Busch MP. Comparative sensitivity of HBV NATs and HBsAg assays for detection of acute HBV infection. *Transfusion* 2003;43:788-98.
6. Busch MP, Glynn SA, Stramer SL, Strong DM, Caglioti S, Wright DJ, Pappalardo B, Kleinman SH; NHLBI-REDS NAT Study Group. A new strategy for estimating risks of transfusion-transmitted viral infections based on rates of detection of recently infected donors. *Transfusion* 2005;45: 254-64.
7. Kleinman SH, Busch MP. Assessing the impact of HBV NAT on window period reduction and residual risk. *J Clin Virol* 2006;36 Suppl 1:S23-9.
8. Yugi H, Mizui M, Tanaka J, Yoshizawa H. Hepatitis B virus (HBV) screening strategy to ensure the safety of blood for transfusion through a combination of immunological testing and nucleic acid amplification testing—Japanese experience. *J Clin Virol* 2006;36 Suppl 1:S56-64.

9. Weusten JJ, van Drimmelen HA, Lelie PN. Mathematic modeling of the risk of HBV, HCV, and HIV transmission by window-phase donations not detected by NAT. *Transfusion* 2002;42:537-48.
10. Prince AM, Brotman B. Perspectives on hepatitis B studies with chimpanzees. *ILAR J* 2001;42:85-8.
11. Shikata T, Karasawa T, Abe K, Uzawa T, Suzuki H, Oda T, Imai M, Mayumi M, Moritsugu Y. Hepatitis B e antigen and infectivity of hepatitis B virus. *J Infect Dis* 1977;136:571-6.
12. Minegishi K, Yoshikawa A, Kishimoto S, Yugi H, Yokoya N, Sakurada M, Kiyokawa H, Nishioka K. Superiority of minipool nucleic acid amplification technology for hepatitis B virus over chemiluminescence immunoassay for hepatitis B surface antigen screening. *Vox Sang* 2003;84:287-91.
13. Ohtaki M, Satoh K, Kanda T, Fujikoshi Y. Local ridge estimate using random coefficient curve models for analyzing repeated measurements. *J Jpn Stat Soc* 2007;36:177-84.
14. Vonesh EF, Carter RL. Efficient inference for random-coefficient growth curve models with unbalanced data. *Biometrics* 1987;80:642-50.
15. Katayama K, Kumagai J, Komiya Y, Mizui M, Yugi H, Kishimoto S, Yamanaka R, Tamatsukuri S, Tomoguri T, Miyakawa Y, Tanaka J, Yoshizawa H. Titration of hepatitis C virus in chimpanzees for determining the copy number required for transmission. *Intervirology* 2004;47:57-64.
16. Tanaka J, Katayama K, Kumagai J, Komiya Y, Yugi H, Kishimoto S, Mizui M, Tomoguri T, Miyakawa Y, Yoshizawa H. Early dynamics of hepatitis C virus in the circulation of chimpanzees with experimental infection. *Intervirology* 2005;48:120-3.
17. Berninger M, Hammer M, Hoyer B, Gerin JL. An assay for the detection of the DNA genome of hepatitis B virus in serum. *J Med Virol* 1982;9:57-68.
18. Ulrich PP, Bhat RA, Seto B, Mack D, Sninski J, Vyas GN. Enzymatic amplification of hepatitis B virus DNA in serum compared with infectivity testing in chimpanzees. *J Infect Dis* 1989;160:37-43.
19. Prince AM, Stephan W, Brotman B. Beta-propiolactone/ultraviolet irradiation: a review of its effectiveness for inactivation of viruses in blood derivatives. *Rev Infect Dis* 1983;5:92-107.
20. Hsia CC, Purcell RH, Farshid M, Lachenbruch PA, Yu MY. Quantification of hepatitis B virus genomes and infectivity in human serum samples. *Transfusion* 2006;46:1829-35.
21. Barker LF, Murray R. Relationship of virus dose to incubation time of clinical hepatitis and time of appearance of hepatitis-associated antigen. *Am J Med Sci* 1972;263:27-33.
22. Sugiyama M, Tanaka Y, Kato T, Orto E, Ito K, Acharya SK, Gish RG, Kramvis A, Shimada T, Izumi N, Kaito M, Miyakawa Y, Mizokami M. Influence of hepatitis B virus genotypes on the intra- and extracellular expression of viral DNA and antigens. *Hepatology* 2006;44:915-24. **□**



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	回	報告日 年 月 日	第一報入手日 2008 年 2 月 8 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		研究報告の公表状況	An international collaborative study to establish the 2nd World Health Organization International Standard for hepatitis B virus DNA nucleic acid amplification technology-based assays. Baylis, S. A. et al, Vox Sanguinis (2008) [Epub ahead of print]	公表国 英国	
販売名 (企業名)					
研究報告の概要	1999 年, WHO は核酸増幅検査 (NAT) による B 型肝炎ウイルス (HBV) DNA 検出のための最初の国際標準用品 (サンプル 1) を樹立し, 10E6 IU/mL の力価を適用した。その当時, 将来的に代替標準品となる可能性があるという発想から, 同じ血漿から同じ凍結乾燥条件下で調製した別の DNA 検体 (サンプル 2) が保存された。本試験の目的は, 長期間保存したこれらサンプルの力価及び安定性を再評価することであった。サンプル 1 及び 2 は, 6 ヶ所の分析機関に送付され, 4 回に分けて質と量の両面から分析した。全ての分析機関で得られた結果から, これら検体の力価に有意な差は認められなかった。また, 安定性試験では両検体ともに非常に安定しており, 4℃又は 20℃で 51 ヶ月以上保存した後でも有意な変性は認められなかった。この結果を受けて, WHO は 2006 年 10 月, サンプル 2 を NAT 法による HBV DNA 検出のための新たな国際標準品として樹立した。				使用上の注意記載状況・ その他参考事項等 BYL-2008-0308
	報告企業の意見	今後の対応			
この試験は新たな国際標準品の樹立を報告するとともに, 凍結乾燥により保存された HBV DNA が極めて安定であることが報告されている。		現時点で新たな安全対策上の措置を講じる必要はないと考える。			





# An international collaborative study to establish the 2<sup>nd</sup> World Health Organization International Standard for hepatitis B virus DNA nucleic acid amplification technology-based assays

S. A. Baylis,<sup>1</sup> A. B. Heath,<sup>1</sup> M. Chudy,<sup>2</sup> G. Pisani,<sup>3</sup> A. Klotz,<sup>4</sup> S. Kerby<sup>5</sup> & W. Gerlich<sup>6</sup>

<sup>1</sup>National Institute for Biological Standards and Control, Potters Bar, Hertfordshire, UK

<sup>2</sup>Paul Ehrlich Institute, Langen, Germany

<sup>3</sup>Instituto Superiore di Sanità, Rome, Italy

<sup>4</sup>Plasma Analytics, Baxter AG, Vienna, Austria

<sup>5</sup>Center for Biologics Evaluation and Research, Food and Drug Administration, Rockville, MD, USA

<sup>6</sup>Institute for Medical Virology, University of Giessen, Giessen, Germany

## Vox Sanguinis

**Background and Objectives** The aim of this study was to replace the 1<sup>st</sup> World Health Organization International Standard for hepatitis B virus DNA for nucleic acid amplification technique (NAT)-based assays (code 97/746) with a new International Standard. Two lyophilized preparations freeze dried from the same bulk were evaluated in the original collaborative study (coded 97/746 and 97/750, and termed AA and BB, respectively, in the original study). This present study re-evaluates these two preparations in terms of potency and real-time stability.

**Materials and Methods** The 1<sup>st</sup> International Standard (97/746) and the second lyophilized preparation (97/750) were coded Samples 1 and 2, respectively, in the present study. The samples were distributed to six laboratories and assayed on four separate occasions. Accelerated thermal degradation samples of the two preparations were examined after long-term storage at 4 °C and 20 °C for more than 51 months.

**Results** Data were returned from a total of nine different NAT-based assays, five in qualitative format and four in quantitative format. The results of this study confirm the results of the original collaborative study, with no significant differences being found in estimated international units (IU)/ml or polymerase chain reaction-detectable units/ml for the 1<sup>st</sup> International Standard (Sample 1 in this study) and the proposed replacement preparation, Sample 2 (97/750). Real-time and accelerated degradation studies indicate that both samples are very stable. Storage of both preparations at 20 °C for more than 51 months resulted in no detectable degradation.

**Conclusions** On the basis of the data presented in this collaborative study, Sample 2 (code 97/750) was established as the 2<sup>nd</sup> International Standard for hepatitis B virus DNA for NAT-based assays with a potency of 10<sup>6</sup> IU/ml (500 000 IU/vial).

**Key words:** hepatitis B virus, International Standard, NAT.

Received: 22 October 2007,  
revised 20 November 2007,  
accepted 25 November 2007

Correspondence: S. A. Baylis, Paul-Ehrlich-Institut, Paul-Ehrlich-Strasse  
51-59, 63225 Langen, Germany  
E-mail: baysa@pei.de

## Introduction

The 1<sup>st</sup> International Standard (IS) for hepatitis B virus (HBV) DNA for nucleic acid amplification technique (NAT)-based assays (code 97/746) was established in 1999 by the

World Health Organization (WHO) Expert Committee on Biological Standardization (ECBS) [1]. This standard has been used in the calibration of secondary standards and working reagents, and has been used in the validation of assays for both the qualitative and quantitative detection of HBV DNA in serum and plasma. The standard has been used in the field of blood and blood product safety, as well as in the clinical investigation of HBV infection, both for diagnosis and for monitoring HBV loads in response to antiviral therapy.

In the original collaborative study, three preparations were evaluated. Two of the materials were lyophilized preparations formulated by dilution of R1, the Eurohep reference material [2] in pooled human plasma. This plasma bulk containing HBV was stored at  $-70^{\circ}\text{C}$  until processing. A single bulk material was lyophilized on two separate occasions, 2 weeks apart, using the same processing parameters [1]. These lyophilized preparations, coded 97/746 and 97/750, were termed AA and BB, respectively, in the original collaborative study. A third preparation, termed CC, was a liquid/frozen HBV plasma sample. No significant difference in potency was observed between AA and BB, which had been prepared from the same bulk material, but had been lyophilized on separate occasions. The 1<sup>st</sup> IS for HBV DNA for NAT-based assays was assigned a potency of  $10^6$  international units per ml ( $10^6$  IU/ml). In the 50<sup>th</sup> report of the WHO ECBS [3], it was noted that 97/750 would be reserved as a potential replacement standard in the future. As 97/750 had been fully characterized in the original collaborative study, the WHO ECBS proposed examination of real-time stability data of the 1<sup>st</sup> IS and the candidate replacement standard 97/750.

In the present collaborative study, the potency and stability of the candidate replacement standard 97/750 is compared to the 1<sup>st</sup> IS for HBV DNA. The approach for the re-evaluation of 97/750 was agreed on at the 16<sup>th</sup> meeting of the International Scientific Working Group on the Standardization of Genome Amplification Techniques (SoGAT) in May 2005 [4].

## Materials and methods

The 1<sup>st</sup> IS for HBV DNA for NAT-based assays (97/746) and the proposed replacement (97/750) were lyophilized from the same bulk starting material derived from a high-titre HBV genotype A2 (HBV surface antigen subtype *adu2*) sample (Eurohep R1), diluted in human plasma [1]. This HBV strain has a sequence characteristic of those circulating in central Europe [2].

## Collaborative study

Six laboratories participated in the collaborative study and each was requested to assay the 1<sup>st</sup> IS for HBV DNA (97/746)

concurrently with the candidate replacement standard (97/750). The participating laboratories were from five different countries and represented quality control laboratories, a manufacturer of plasma derivatives and an academic institution (a national reference laboratory for hepatitis B and D). Participants were sent four vials of the 1<sup>st</sup> IS (97/746) and four vials of the candidate replacement standard (97/750), these were coded Samples 1 and 2. The normal temperature for the long-term storage of 97/746 and 97/750 is  $-20^{\circ}\text{C}$  and participants were requested to store the samples under these conditions until analysis. The aim of the study was to determine whether there was any evidence of loss of potency of the two lyophilized preparations during normal storage conditions, since the time they were freeze dried. Participants were requested to test the samples on four separate occasions. The lyophilized samples were reconstituted with 0.5 ml of nuclease-free deionized water and the contents gently agitated for 20 min before analysis. In the case of qualitative assays, participants were requested to perform serial dilutions of the samples in four independent assay runs. In the first qualitative assay run, 10-fold dilutions were performed to determine the end-point for the detection of HBV DNA. In each of the subsequent three assay runs, a minimum of two half- $\log_{10}$  dilutions either side of the predetermined end-point were tested, and results reported as positive or negative. In the case of quantitative assays for HBV DNA, participants were requested to report results in IU/ml and to test the samples without dilution, or prepare dilutions of the samples as necessary, depending on the linear range of assays used. In addition, one laboratory analysed the Eurohep R1 reference in parallel, following continuous storage at  $-80^{\circ}\text{C}$ .

## Stability studies

For accelerated thermal degradation studies, vials of 97/746 and 97/750 were incubated at  $4^{\circ}\text{C}$  and  $20^{\circ}\text{C}$ , for between 51 months and 56 months. The degradation samples were extracted as previously described [5] and analysed in parallel with samples of the two preparations that had been stored at  $-20^{\circ}\text{C}$ , to provide a baseline for analysis. One set of assay runs was performed using the Artus HBV LC PCR Kit (Qiagen GmbH, Hilden, Germany) and used in accordance with the manufacturer's instructions. A second set of assay runs was performed using previously published primers and probe sequences [5] and amplification reactions were performed using the LightCycler FastStart DNA Master Hybprobe kit (Roche Applied Science, Mannheim, Germany). Standard curves were prepared using serial 10-fold dilutions of the 1<sup>st</sup> IS for HBV DNA (97/746). The stability studies were performed by two different operators at the National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC), UK.



Table 1 Laboratory codes and assay protocols used by participants

Laboratory code	Method	Type
1	Roche COBAS TaqMan HBV test with use of HPS viral nucleic acid kit	Quantitative
2A	Artus HBV LC PCR kit	Quantitative
2B	In-house real-time PCR	Quantitative
3A	Roche COBAS AmpliScreen HBV test	Qualitative
3B	In-house real-time PCR	Qualitative
3C	In-house real-time PCR	Qualitative
4	In-house real-time PCR	Quantitative
5	In-house PCR	Qualitative
6	Roche COBAS AmpliScreen HBV test	Qualitative

PCR, polymerase chain reaction; HBV, hepatitis B virus.

In-house assay details for the following laboratories; 2B, the assay was based on a previously published amplification method [6] targeting the HBs gene with detection using the Roche LightCycler; 3B, qualitative real-time PCR assay amplifying the core region of the HBV genome with detection using the Roche LightCycler; 3C as for 3B, with an initial ultracentrifugation step prior to extraction; 4 real-time PCR amplifying the X region of the HBV genome [7] and detection using the Roche LightCycler; 5, qualitative PCR assay amplifying the HBV core region and detection using capillary electrophoresis.

## Results

For the analysis of the results, a code number was allocated at random for each laboratory (Table 1), and does not reflect the numbers assigned to laboratories that participated in the original collaborative study to establish the 1<sup>st</sup> IS (97/746). Where individual laboratories returned data from more than one assay method, or repeat assays by different operators, the results were analysed separately, and referred to as, for example, laboratories 3A and 3B. Each participating laboratory performed four separate assay runs on the two preparations as requested in the study protocol. The types of assays used by participants are recorded in Table 1; these cover a range of in-house ( $n = 5$ ) and commercially available tests ( $n = 4$ ). Where they have been disclosed, details of the assay and region of the HBV genome amplified are indicated (Table 1). Three laboratories (1, 2A, 2B, and 4) returned data from quantitative assays, with results expressed in IU/ml. All calculations were based on the estimates of  $\log_{10}$  IU/ml, to give overall mean figures for each laboratory. Three laboratories (3A, 3B, 5 and 6) returned data from end-point dilution series, produced using qualitative assays. These were analysed to determine the polymerase chain reaction (PCR)-detectable units/ml for each sample, using the statistical methods described in the publication of the original collaborative study to establish the 1<sup>st</sup> IS for HBV DNA [1].

The estimated IU/ml ( $\log_{10}$ ) from the quantitative assays and PCR-detectable units/ml ( $\log_{10}$ ) from the qualitative

Table 2 Estimated IU/ml ( $\log_{10}$ ) from quantitative assays

Laboratory number	Sample	
	Sample 1	Sample 2
1	5.99	5.97
2A	6.08	5.99
2B	6.06	5.92
4	5.94	5.86
Mean <sup>a</sup>	6.00	5.93

<sup>a</sup>Results combined for laboratory 2 to give a single mean prior to calculating overall mean of laboratories.

Table 3 Estimated polymerase chain reaction (PCR)-detectable units/ml ( $\log_{10}$ ) for qualitative assays

Laboratory number	Sample	
	Sample 1	Sample 2
3A	6.48	6.58
3B	6.90	6.68
3C	6.56	6.35
5	6.49	6.25
6	6.51	6.59

assays are shown in Tables 2 and 3, respectively. For both quantitative and qualitative assays, the results for Samples 1 and 2 are extremely close. For the quantitative assays, combining the results from laboratory 2 to give a single laboratory mean, the overall estimate for the 1<sup>st</sup> IS, Sample 1, is 6.00  $\log_{10}$  IU/ml, exactly the assigned unitage, and 5.93  $\log_{10}$  IU/ml for Sample 2. If the results of the assays from laboratory 2 are considered separately (2A and 2B), then the overall means are 6.02 and 5.94  $\log_{10}$  IU/ml for Samples 1 and 2, respectively. There is also very close agreement between the results from the individual laboratories. One set of results submitted by laboratory 3C was returned as crossing point (Ct) values; these were not included in the main analysis, as it was not possible to convert them to either IU or PCR-detectable units. However, these results were in line with all other assay methods (i.e. demonstrating equivalence of Samples 1 and 2). Calculating the pairwise difference in  $\log_{10}$  estimates between Samples 1 and 2 for each laboratory that provided quantitative data, there was a small, but marginally significant ( $P = 0.044$ ) difference of 0.08. When the results from laboratory 2 are combined to give a single laboratory mean, the difference between Samples 1 and 2 is similar (0.07), but no longer significant. Laboratory 4 also measured the Eurohep reference sample R 1. Samples 1 and

Table 4 Estimated IU/ml ( $\log_{10}$ ) for accelerated degradation samples

Storage temperature	Sample	
	Sample 1	Sample 2
-20 °C	6.02	5.92
4 °C	5.92	5.91
20 °C	5.94	6.03

The accelerated thermal degradation samples were stored at 4 °C and 20 °C for a period of 51 and 56 months; these samples were compared to vials of 97/746 that were stored continuously at -20 °C. Four vials of each sample stored at 4 °C and 20 °C were analysed on four separate occasions, each sample extract was tested in triplicate on each occasion. The data were pooled for the two different storage times and mean values shown for the estimated IU/ml ( $\log_{10}$ ).

2 were originally prepared from R1 following a 1 in 500 dilution in human plasma. The titre of R1 was determined to be  $8.73 \log_{10}$  IU/ml, which is in very good agreement with the expected titre of  $8.70 \log_{10}$  IU/ml. The difference between Samples 1 and 2 was not significant when estimates from all laboratories were included. This was the case whether treating the different assay methods of laboratory 3 as three separate laboratories ( $P = 0.099$ ) or combining their estimates into a single laboratory mean ( $P = 0.124$ ).

#### Stability studies

A total of four separate assay runs were performed by a single laboratory. The overall mean estimated IU/ml ( $\log_{10}$ ) for the different samples and storage temperatures are shown in Table 4. From analysis of the raw data, no degradation was evident for any of the test samples when compared with baseline samples stored at -20 °C; as a consequence the results were combined for the samples stored for 51 months, and those stored for 56 months. The results summarized in Table 4 clearly demonstrate that no degradation has occurred. Performing a formal significance test, there was no significant difference in estimated IU/ml across the temperatures for either sample. It should be noted that the formal test allowed for any possible differences between the samples stored for 51 months and those stored for 56 months. It is not possible to obtain precise predictions of expected loss per year, because no observed degradation has taken place and, thus, it was not possible to apply the Arrhenius model of accelerated degradation [8,9]. However, if it were assumed that the degradation rate would double with every 10 °C increase in storage temperature, the lack of any detectable degradation at 20 °C for over 4 years would equate to no detectable degradation at -20 °C for 64 years. Real-time stability, of the 1<sup>st</sup> IS (Sample 1) and Sample 2, as effectively

determined in the present collaborative study, indicates no loss of potency of these two preparations since time of manufacture, as evidenced by the values reported by the participants.

#### Conclusions

The results of this collaborative study are in good agreement with the results of the original study [1]. Using only the results of the quantitative assays, which are expected to be more precise than the qualitative assays, there was a difference of around 0.07 to 0.08  $\log_{10}$  between the estimated IU/ml for the 1<sup>st</sup> IS and the candidate replacement, Sample 2. If assays from two differing methods used by laboratory 2 are treated as if from separate laboratories, this difference is marginally significant ( $P = 0.044$ ). However, if the results for laboratory 2 are first combined, the difference is no longer significant. Including the results from all participants, using both quantitative and qualitative assays, there is no significant difference between the 1<sup>st</sup> IS and the candidate replacement, Sample 2. This lack of significant difference is in contrast to a recently completed study to establish the 3<sup>rd</sup> IS for hepatitis C virus (HCV) RNA [10]. Here two lyophilized preparations, derived from the same bulk, were evaluated by 33 laboratories that calibrated them against the 2<sup>nd</sup> HCV IS, using a wide range of commercial and in-house quantitative and qualitative assays. The relative potencies of the two new lyophilized HCV RNA preparations were 5.19 and 5.41  $\log_{10}$  IU/ml, while the unprocessed bulk material had a relative potency of 5.70  $\log_{10}$  IU/ml. These differences in relative potencies between the two lyophilized HCV RNA preparations were statistically significant ( $P < 0.0001$ ), with a clear loss of potency on processing. This is in contrast to the HBV study presented here. From the original collaborative study and data from this new study, there is no significant difference between the potencies of the two HBV DNA Samples 1 and 2, nor was there any detectable loss of titre of the preparations following lyophilization [1].

The results of the accelerated degradation studies have also demonstrated that both Samples 1 and 2 are extremely stable and suitable for long-term use, with no detectable degradation for either preparation after storage at 20 °C for more than 4 years. This stability is in contrast to the 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> IS for HCV RNA (96/790 and 96/798, respectively), which showed an average decrease of  $\log_{10}$  1.9 for samples stored at 20 °C for more than 5 years [11]. This difference in the observed stability may be due to the nature of the viral nucleic acid, which in the case of HBV is DNA, in contrast to the RNA genome of HCV, which is likely to be more unstable and susceptible to degradation. However, it is possible that further unknown factors influence the stability.

On the basis of this study, Sample 2 (97/750) was established as the 2<sup>nd</sup> IS for HBV DNA for NAT-based assays by the WHO

ECBS in October 2006. This preparation has a potency of  $10^6$  IU/ml. Each vial contains the equivalent of 0.5 ml of material, and the content of each vial is  $5 \times 10^5$  IU per vial. Vials of 97/750 are available from NIBSC.

## References

- 1 Saldanha J, Gerlich W, Lelie N, Dawson P, Heermann K, Heath A, the WHO Collaborative Study Group: an international collaborative study to establish a World Health Organization international standard for hepatitis B virus DNA nucleic acid amplification techniques. *Var Sang* 2001; 80:63–71
- 2 Heermann KH, Gerlich WH, Chudy M, Schaefer S, Thomssen R, the Eurohep Pathobiology Group: Quantitative detection of hepatitis B virus DNA in two international reference plasma preparations. *J Clin Microbiol* 1999; 37:68–73
- 3 World Health Organization: *WHO Expert Committee on Biological Standardization*, technical report series, 904; Fiftieth report, 2002:23–24
- 4 Baylis SA, Davis C, Holmes H: Minutes of the eighteenth meeting of the Scientific Working Group on the Standardisation of Genome Amplification Techniques for the Safety Testing of Blood, Tissues and Organs (SoGAT). National Institutes of Health, Bethesda MD, USA, 24–25 May 2005
- 5 Baylis SA, Shah N, Minor PD: Evaluation of different assays for the detection of parvovirus B19 DNA in human plasma. *J Virol Methods* 2004; 121:7–16
- 6 Weinberger KM, Wiedenmann E, Böhm S, Jilg W: Sensitive and accurate quantitation of hepatitis B virus DNA using a kinetic fluorescence detection system (TaqMan PCR). *J Virol Methods* 2000; 85:75–82
- 7 Jursch CA, Gerlich WH, Glebe D, Schaefer S, Marie O, Thraenhart O: Molecular approaches to validate disinfectants against human hepatitis B virus. *Med Microbiol Immunol* 2002; 190:189–197
- 8 Kirkwood TBL: Predicting the stability of biological standards and products. *Biometrics* 1977; 33:736–742
- 9 Tydeman MS, Kirkwood TBL: Design and analysis of accelerated thermal degradation tests for the stability of biological standards I. Properties of maximum likelihood estimators. *J Biol Stand* 1984; 12:195–206
- 10 Baylis SA, Heath A, the collaborative Study Group: WHO collaborative study to establish a replacement WHO International Standard for hepatitis C virus RNA nucleic acid amplification technique (NAT)-based assays. WHO ECBS Report 2007; WHO/BS/07.2055
- 11 Saldanha J, Heath A, Aberham C, Albrecht J, Gentili G, Gessner M, Pisani G: World Health Organization collaborative study to establish a replacement WHO international standard for hepatitis C virus RNA nucleic acid amplification technology assays. *Var Sang* 2005; 88:202–204



医薬品 研究報告 調査報告書

<p>識別番号・報告回数</p>			<p>報告日</p>	<p>第一報入手日 2008. 2. 18</p>	<p>新医薬品等の区分 該当なし</p>	<p>機構処理欄</p>
<p>一般的名称</p>	<p>新鮮凍結人血漿</p>		<p>研究報告の公表状況</p>	<p>沼尾宏, 渡辺泰宏, 立花直樹. 第37回日本肝臓学会西部会; 2007 Dec 7-8; 長崎.</p>	<p>公表国</p>	
<p>販売名(企業名)</p>	<p>新鮮凍結血漿「日赤」(日本赤十字社) 新鮮凍結血漿-LR「日赤」(日本赤十字社)</p>				<p>日本</p>	
<p style="writing-mode: vertical-rl; text-orientation: upright;">研究報告の概要</p> <p>○輸血によりHBs抗体エスケープ変異株に感染した一例 【症例】40歳代女性。平成16年8月より発熱あり、白血病の疑いにて平成16年10月21日入院。混合型急性白血病として10月25日より化学療法を施行。入院時HBsAg-, HCVAb-であった。10月末より11月にかけてALT387IU/Lまで上昇した。11月10日にはHBsAg-, HBsAb+, HbcAb+, HBeAg-, HBeAb-, HBV-DNAポリメラーゼ0CPM。一時肝機能は正常化したものの、平成18年2月中旬より再びトランスアミナーゼの上昇を軽度認めた。白血病が血液学的寛解となり4月17日退院。外来で化学療法を施行していたが、5月30日AST 947IU/L、ALT 1683IU/Lと上昇し再度入院。HBeAg+, HBeAb+, HBcAb・IgM+で、他の肝炎ウイルスマーカーが陰性であったためHBV感染を疑い、6月5日よりラミブジン100mg/日投与開始した。6月6日HBV-PCR 3.4LC/mLであった。その後ALT 2357IU/L、T-Bil 7.41mg/dlまで上昇し、肝炎の改善傾向はなかった。ラミブジンの継続と肝庇護療法にて肝機能は改善した。6月23日の肝生検では小葉内肝細胞壊死を伴った高度の炎症細胞浸潤を認め、急性肝炎の所見であった。AST17IU/L、ALT27IU/Lとなり7月22日退院。HBV-PCR陽性となるまでに患者に投与されたすべての血液製剤について個別HBV-NATを実施した結果、平成16年11月に輸血したFFPがHBV陽性であった。製剤と患者のHBVはいずれもGenotype C/Subtype ayrでS抗原のN末端から145番目のアミノ酸がGlyからSerに置換しており、エスケープミュータントであった。また、両者のα領域(PreS/S領域を含むP領域の前半部)の塩基配列は一部の塩基の共存を除き、完全に一致した。HBV-DNAはいずれも定量限界(100copies/mL)未満であった。患者はその後ラミブジンの投与を継続し、骨髄移植を行った。肝炎の再燃は認めなかったが、白血病のため平成18年10月永眠された。【考察】核酸増幅検査を含む献血者のスクリーニングを行っているにもかかわらず、本邦では年間10-20例のHBV感染が報告されている。その原因の一つがHBs抗体エスケープミュータントであるが、本症例のように献血者、受血者ともに塩基配列の解析を行い感染が証明された例はきわめて稀と考えられ報告する。</p>	<p>使用上の注意記載状況・ その他参考事項等</p>					
	<p>新鮮凍結血漿「日赤」 新鮮凍結血漿-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> <p>自発報告:2006年3月16日付1-05000059</p>					
<p>報告企業の意見</p>			<p>今後の対応</p>			
<p>輸血によりHBs抗体エスケープ変異株に感染し、献血者、受血者の塩基配列の解析を行って感染が証明された症例の報告である。</p>			<p>日本赤十字社では、HBs抗原検査及びHBc抗体検査を実施することに加えて、HBVについて20プールでスクリーニングNATを行い、陽性血液を排除している。HBV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。また、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)の導入を順次進めている。NATの精度向上についても評価・検討している。</p>			

5

O-9 初診時より HBs 抗体陽性であった B 型急性肝炎の一例

○石田素子, 松本修一, 筋浦立成  
福岡徳洲会病院総合内科

【症例】33 歳男性【主訴】全身関節痛【現病歴】来院 5 日前起床時に頸部痛を自覚し毎日に全身関節に拡大。症状の改善がなく当科外来を初診した。関節痛は時間帯, 安静労作に関係なく, 食欲低下を認める以外は発熱, かぜ症状などは認めない。【生活歴】MSM (men who have sex with men) で最終性交は半年前, パートナーは固定していない, 刺青・輸血歴・海外渡航歴なし, 常用薬なし, 喫煙は 20 本/日, 機会飲酒。【家族歴】肝疾患なし。【来院時現症】眼瞼結膜に黄疸なし, 胸部異常所見なし, 肝脾触知せず, 疼痛のある関節に腫脹, 発赤, 熱感なし。【検査所見】AST 1430IU/L, ALT 2630 IU/L, PT50%, T.bil0.8mg/dl, IgM-HA 抗体陰性, HCV-RNA 陰性, HBs 抗原 (2000) 陽性, HBs 抗体 (1000) 陽性, IgMHBc 抗体 (31.5) 陽性, HBV-DNA >7.6LGE/ml, HBV genotype A【経過】安静のみで採血データは徐々に改善し, 入院時認めた食欲低下や関節痛もそれとともに軽微した。HBs 抗体陽性ではあったが, IgMHBc 抗体高濃度陽性で B 型急性肝炎と診断した。感染経路としては性感染症と予想され, その他の感染症も検査した結果, 2 期梅毒を認めたが, HIV は陰性であった。【まとめ】診断初期より HBs 抗原抗体が共に高値を示しその判断に苦慮した B 型急性肝炎を経験した。HBs 抗原抗体の共存について文献的な報告を含め考察する。

O-10 輸血により HBs 抗体エスケープ変異株に感染した一例

○沼尾 宏<sup>1</sup>, 渡辺泰宏<sup>2</sup>, 立花直樹<sup>3</sup>  
青森県立中央病院消化器内科・化学療法科<sup>1</sup>, わたなべ内科クリニック<sup>2</sup>, 青森県立中央病院輸血部<sup>3</sup>

【症例】40 歳代女性, 主訴: 肝機能障害, 家族歴: 特記すべきことなし, 既往歴: 平成元年切迫早産, 現病歴: 平成 16 年 8 月より発熱あり近医受診, 白血病の疑いで平成 16 年 10 月 21 日当院リウマチ・血液内科紹介入院, 経過: 混合型急性白血病患者として 10 月 25 日より化学療法を施行, 入院時 HBsAg- (0.00), HCVAb- (0.1) であった。10 月末より 11 月にかけて ALT 387 IU/L までの上昇を認めた。11 月 10 日の採血では HBsAg- (<0.05IU/mL), HBsAb+ (69.0mIU/mL), HbcAb+ (1.82 S/CO), HBeAg- (0.4), HBeAb- (16%), HBV-DNA ポリメラーゼ 0 CPM, その後一時肝機能は正常化したものの平成 18 年 2 月中旬より再びトランスアミナーゼの上昇を軽度認めた。白血病が血液学的寛解となり 4 月 17 日退院, 外来でプレドニゾロンを含む化学療法を施行していたが, 5 月 30 日 AST 947 IU/L, ALT 1683IU/L と上昇, リウマチ・血液内科入院, HBeAg+ (1.52S/CO), HBeAb+ (65.2), HbcAb-IgM+ (20.9 S/CO) で, かつ他の肝炎ウイルスマーカーが陰性であったため HBV 感染を疑い 6 月 5 日よりラミブジンを 100mg/日 で投与開始した。6 月 6 日 HBV-PCR 34LC/mL であった。その後 ALT 2357IU/L, T-Bil 7.41mg/dl まで上昇し, 肝炎の改善傾向がないため当科転科となった。ラミブジンの継続と肝臓保護療法にて肝機能は改善した。6 月 23 日の肝生検では小葉内肝細胞壊死を伴った高度の炎症細胞浸潤を認め, 急性肝炎の所見であった。AST 177IU/L, ALT 277IU/L となり 7 月 22 日退院, HBV-PCR 陽性となるまでに患者に投与されたすべての血液製剤について個別 HBV-NAT を実施した結果, 平成 16 年 11 月に輸血した FFP が HBV 陽性であった。この製剤中と患者の HBV はいずれも Genotype C/Subtype ayr で S 抗原の N 末端から 145 番目のアミノ酸が Gly から Ser に置換しており, エスケープミュータントであった。また, 両者の  $\alpha$  領域 (PreS/S 領域を含む P 領域の前半部) の塩基配列は一部の塩基の共存を除き, 完全に一致した。HBV-DNA はいずれも定量限界 (100copies/mL) 未満であった。患者はその後ラミブジンの投与を継続し, 骨髄移植を行った。肝炎の再燃は認めなかったが, 白血病のため平成 18 年 10 月永眠された。【考察】核酸増幅検査を含む献血者のスクリーニングを行っているにもかかわらず, 本邦では年間 10~20 例の HBV 感染 (occult HBV による感染) が報告されている。その原因の一つが HBs 抗体エスケープミュータントであるが, 本症例のように献血者, 受血者ともに塩基配列の解析を行い感染が証明された例はきわめて稀と考えられ報告する。


医薬品 研究報告 調査報告書

<p>識別番号・報告回数</p>		<p>報告日</p>	<p>第一報入手日 2007. 11. 22</p>	<p>新医薬品等の区分 該当なし</p>	<p>機構処理欄</p>
<p>一般的名称</p>	<p>(製造承認書に記載なし)</p>	<p>研究報告の公表状況</p>	<p>Dhalla S, Tenner CT, Aytaman A, Shukla NB, Villanueva G, Punla G, Patterson C, Comas J, Bini EJ. American Society for the Study of Liver Diseases; 2007 Nov 2-6; Boston.</p>	<p>公表国</p>	
<p>販売名(企業名)</p>	<p>合成血「日赤」(日本赤十字社) 照射合成血「日赤」(日本赤十字社) 合成血-LR「日赤」(日本赤十字社) 照射合成血-LR「日赤」(日本赤十字社)</p>			<p>米国</p>	
<p>研究報告の概要</p>	<p>○入れ墨とC型肝炎ウイルス感染の強い相関:患者3871名による多施設共同研究 背景:HCV感染のリスク要因として静注薬物使用と1992年以前の輸血がよく知られてきたが、入れ墨に関しては議論があった。さらに、複数の先行する研究では、HCV感染のリスク要因としての入れ墨は静注薬物使用と混同されてきた可能性がある。本研究の目的は、典型的なHCV感染リスクのない患者多数における入れ墨とHCV感染の関係を明らかにすることである。 方法:慢性HCV感染の患者(HCV RNA陽性)とコントロール群(HCV抗体陰性)が3つの研究施設での外来診療時、詳細なアンケートに回答した。患者の人口統計学的データとHCVリスク要因を含むデータを収集した。 結果:合計3871名の患者のうち1930名が慢性HCV感染群、1941名が陰性のコントロール群だった。平均年齢(55.2±9.0 vs. 55.6±11.3年、p=0.34)と男女比(80.3% vs 81.4%、p=0.39)に有意差はなかった。しかし、感染群は人種的/民族的マイノリティが多かった(78.5% vs 56.5%、p&lt;0.001)。予想されたとおり、静注薬物使用(65.9% vs 17.8%、p&lt;0.001)と1992年以前の輸血(22.3% vs 11.1%、p&lt;0.001)は、HCV感染群の方がコントロール群よりも多かった。感染群は2つ以上の入れ墨がある傾向が強く(35.2% vs 12.5%; OR=3.81; 95% CI, 3.24-4.49; p&lt;0.001)、これは年齢、性別、人種/民族についての補正後も有意だった(OR=4.57; 95% CI, 3.83-5.45; p&lt;0.001)。静注薬物使用歴と1992年以前の輸血歴を持つ患者を除外した後に残った1887名を分析した(466名が感染群、1421名がコントロール群)。陽性群の患者は入れ墨歴がある傾向が強く(34.1% vs. 11.9%; OR=3.84; 95% CI, 2.99-4.93; p&lt;0.001)、年齢、性別、人種/民族についての補正後も統計的に有意だった(OR=4.47; 95% CI, 3.42-5.83; p&lt;0.001)。 結論:入れ墨は、静注薬物使用や1992年以前の輸血などの典型的なHCV感染リスク要因のない患者群においても、HCV感染と強く相関している。入れ墨のある患者にはHCV検査が推奨されるべきである。</p>				<p>使用上の注意記載状況・その他参考事項等</p>
	<p>合成血「日赤」 照射合成血「日赤」 合成血-LR「日赤」 照射合成血-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</p>				
<p>報告企業の意見</p>		<p>今後の対応</p>			
<p>入れ墨は、静注薬物使用や1992年以前の輸血などの典型的なHCV感染リスク要因のない患者群においても、HCV感染と強く相関しているとの報告である。</p>		<p>日本赤十字社は、輸血感染症対策として問診時に過去1年以内に入れ墨を入れた人は献血不適としている。今後も引き続き情報の収集に努める。</p>			

9



## AASLD 2007

You may print by clicking on this  button. To return to the previous page, close this browser window or click the 'X' button in the top right corner of the page.

ID# 136

Location: Auditorium (Hynes)

Time of Presentation: Nov 05 5:30 PM - 5:45 PM

Category: Q04. HCV: Epidemiology

**Strong Association between Tattoos and Hepatitis C Virus Infection: A Multicenter Study of 3,871 Patients**

*E. J. Bini<sup>5</sup>; S. Dhalla<sup>1</sup>; C. T. Tenner<sup>2</sup>; A. Aytaman<sup>3</sup>; N. B. Shukla<sup>4</sup>; G. Villanueva<sup>4</sup>; G. Punla<sup>5</sup>; C. Patterson<sup>4</sup>; J. Comas<sup>3</sup>*

1. Department of Medicine, NYU School of Medicine, New York, NY, USA.

2. Division of General Internal Medicine, VA Medical Center & NYU School of Medicine, New York, NY, USA.

3. Division of Gastroenterology, VA Medical Center, Brooklyn, NY, USA.

4. Division of Gastroenterology, Bellevue Hospital Center & NYU School of Medicine, New York, NY, USA.

5. Division of Gastroenterology, VA Medical Center & NYU School of Medicine, New York, NY, USA.

**Background:** Although injection drug use and blood transfusions prior to 1992 are well-accepted risk factors for hepatitis C virus (HCV) infection, the evidence for tattoos as a risk factor for HCV is conflicting. Furthermore, several prior studies that have evaluated tattoos as a risk factor for HCV infection were potentially confounded by injection drug use. The aim of this study was to determine the association between tattoos and HCV infection in a large population of patients without traditional risk factors for HCV infection.

**Methods:** Patients with chronic HCV infection (HCV RNA positive) and controls (HCV antibody negative) completed a detailed questionnaire at the time of their scheduled visit to the outpatient primary care or GI clinic at 3 study sites. Data collected included patient demographics and information on HCV risk factors.

**Results:** A total of 3,871 patients were enrolled, including 1,930 with chronic HCV infection and 1,941 HCV negative controls. There were no differences in the mean age ( $55.2 \pm 9.0$  vs.  $55.6 \pm 11.3$  years,  $p = 0.34$ ) or the proportion who were male (80.3% vs. 81.4%,  $p = 0.39$ ) between HCV-infected patients and controls. However, HCV positive patients were more likely to be racial/ethnic minorities (78.5% vs. 56.5%,  $p < 0.001$ ). As expected, injection drug use (65.9% vs. 17.8%,  $p < 0.001$ ) and blood transfusions prior to 1992 (22.3% vs. 11.1%,  $p < 0.001$ ) were more common in HCV-infected patients than in control subjects. Patients with HCV infection were significantly more likely to have had one or more tattoos (35.2% vs. 12.5%; OR = 3.81; 95% CI, 3.24 – 4.49;  $p < 0.001$ ) and this remained highly significant after adjustment for age, sex, and race/ethnicity (OR = 4.57; 95% CI, 3.83 – 5.45;  $p < 0.001$ ). After excluding all patients with a history of ever injecting drugs and those who have had a blood transfusion prior to 1992, a total of 1,887 subjects remained for analysis (466 HCV positive and 1,421 controls). Among these 1,887 patients without traditional risk factors for HCV infection, we found that HCV positive patients were still significantly more likely to have a history of tattoos (34.1% vs. 11.9%; OR = 3.84; 95% CI, 2.99 – 4.93;  $p < 0.001$ ) and this remained highly statistically significant after adjustment for age, sex, and race/ethnicity (OR = 4.47; 95% CI, 3.42 – 5.83;  $p < 0.001$ ).

**Conclusions:** Tattoos are strongly associated with HCV infection, even among those without traditional HCV risk factors such as injection drug use and blood transfusions. All patients with tattoos should be offered HCV testing.



## 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 2008. 1. 21	新医薬品等の区分 該当なし	機構処理欄
一般的名称	(製造承認書に記載なし)	研究報告の公表状況	Spada E, Abbate I, Sicurezza E, Mariano A, Parla V, Rinnone S, Cuccia M, Capobianchi MR, Mele A. J Med Virol. 2008 Feb;80(2):261-7.	公表国 イタリア	
販売名(企業名)	合成血「日赤」(日本赤十字社) 照射合成血「日赤」(日本赤十字社) 合成血-LR「日赤」(日本赤十字社) 照射合成血-LR「日赤」(日本赤十字社)				
研究報告の概要	○イタリアの血液透析施設におけるC型肝炎集団感染の分子疫学 血液透析患者は、C型肝炎ウイルス(HCV)感染のリスクが高い。本試験の目的は、疫学的、分子学的手法を用いて、血液透析施設におけるHCV集団感染について検討することである。2003年4月～2003年10月に、当該施設を利用する患者4名にHCV抗体セロコンバージョンが認められた。この4名を、当該施設来院時にすでにHCV抗体陽性であった患者10名に加え、14名全員の抗HCV抗体陽性患者のHCV RNAおよびHCV遺伝子型を検査した。HCV RNA 陽性患者のNS5BおよびHVR1/ E2遺伝子領域を増幅し、配列を決定し、系統発生解析を行った。さらに、患者全員から得られた臨床疫学的記録を調べた。新たに感染した患者4名はいずれも遺伝子型2cであった。来院時にすでにHCV抗体陽性であった患者10名のうち2名でも遺伝子型2cが検出された。系統発生解析は、新規HCV感染患者全員が、2c慢性感染患者2名中1名から検出された2c分離ウイルスと群生した分離ウイルスと近縁であることを示した。いずれのHCV-2c感染患者にも血液透析以外のリスク因子はなかった。新規HCV-2c感染患者4名中3名と当該集団感染に関与したHCV-2c慢性感染患者1名は、同日の同一シフト時に透析を受けたが、装置は別のものを使用していた。残りのHCV-2c新規感染患者と前述の3名中1名は、同日の別のシフト時に同一の装置を使用して透析を受けた。当該集団感染は、おそらく感染制御手段の不備によるものであると考えられるが、1症例においては関連装置による伝播が除外できない。				使用上の注意記載状況・ その他参考事項等
					合成血「日赤」 照射合成血「日赤」 合成血-LR「日赤」 照射合成血-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			
2003年4月～2003年10月に、イタリアの血液透析施設でHCVの集団感染が発生し、感染制御手段の不備と装置による伝播が疑われたとの報告である。		HCV感染の新たな伝播ルート等について、今後も情報の収集に努める。			



# Molecular Epidemiology of a Hepatitis C Virus Outbreak in a Hemodialysis Unit in Italy

Enea Spada,<sup>1\*</sup> Isabella Abbate,<sup>2</sup> Elvia Sicurezza,<sup>3</sup> Andrea Mariano,<sup>4</sup> Vincenza Parla,<sup>3</sup> Sebastiano Rinnone,<sup>5</sup> Mario Cuccia,<sup>5</sup> Maria Rosaria Capobianchi,<sup>2</sup> and Alfonso Mele<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istituto Superiore di Sanità, National Centre of Epidemiology, Surveillance and Health Promotion, Rome, Italy

<sup>2</sup>Istituto Nazionale di Malattie Infettive Lazzaro Spallanzani, Laboratory of Virology, Rome, Italy

<sup>3</sup>Azienda Ospedaliera Universitaria, Vittorio Emanuele II, Ferrarotto S. Bambino, Unità Operativa di Nefrologia-Dialisi, Catania, Italy

<sup>4</sup>Istituto Nazionale di Malattie Infettive Lazzaro Spallanzani, Clinical Research Department, Rome, Italy

<sup>5</sup>Azienda Unità Sanitaria Locale 3 Catania, Dipartimento di Prevenzione, Servizio Epidemiologia e Prevenzione, Catania, Italy

Hemodialysis patients are at increased risk of hepatitis C virus (HCV) infection. The aim of this study was to investigate a HCV outbreak in a hemodialysis unit using epidemiological and molecular methods. Between April 2003 and October 2003, anti-HCV seroconversion was detected in four patients attending the unit. These cases were added to 10 patients already anti-HCV positive upon admission in the unit. All 14 anti-HCV patients were tested for HCV RNA and HCV genotype. NS5B and HVR1/E2 genomic regions were amplified and sequenced in all HCV RNA positive patients and phylogenetic analysis was performed. Furthermore, clinical-epidemiological records obtained from all patients were examined. All four patients newly infected harbored genotype 2c. Genotype 2c was also detected in 2 of 10 patients already anti-HCV positive upon admission. Phylogenetic analysis showed that all newly HCV infected patients harbored very closely related viral isolates that clustered together with the 2c isolate found in one of the two 2c chronic infected patients. All HCV-2c infected patients had no other risk factors except hemodialysis. Three of four newly HCV-2c infected patients and the one HCV-2c chronically infected involved in the outbreak received dialysis on the same day and same shift but used different machines. The remaining HCV-2c newly infected patient and one of the above cited three received dialysis on the same day during different shifts but used the same machine. The outbreak was probably due to breaks of infection control procedures although a related-machine transmission cannot be excluded in one of the cases. *J. Med. Virol.* 80:261–267, 2008.

© 2007 Wiley-Liss, Inc.

**KEY WORDS:** epidemiological investigation; genotype; hemodialysis; hepatitis C virus; nosocomial infection; phylogenetic analysis

## INTRODUCTION

Patients on hemodialysis are recognized as a group at increased risk of infection with hepatitis C virus (HCV). The prevalence and incidence of HCV infection among patients receiving hemodialysis varies widely between countries and also within the same country [Fabrizi et al., 2002]. In Italy, the prevalence of HCV among hemodialysis patients ranges between 10% and 50%, and the incidence is around 1–2 cases per 100 person-years [Petrosillo et al., 2001; Di Napoli et al., 2006].

The risk of HCV transmission by blood transfusion to patients receiving hemodialysis has been considerably reduced since screening of blood donors for HCV antibodies (anti-HCV) was introduced and recombinant erythropoietin for treatment of anemia became available [Di Napoli et al., 2006]. However, HCV transmission in hemodialysis units still occurs, and occasionally it is responsible for large outbreaks [Le Pogam et al., 1998; Delarocque-Astagneau et al., 2002; Fabrizi et al., 2002; Kokubo et al., 2002;

Grant sponsor: "Sorveglianze speciali" of the Italian Ministry of the Health (partial support).

\*Correspondence to: Dr. Enea Spada, Istituto Superiore di Sanità, National Centre of Epidemiology, Surveillance and Health Promotion, Clinical Epidemiology Unit, Via Giano Della Bella, 34-00162 Rome, Italy. E-mail: enea.spada@iss.it

Accepted 30 October 2007

DOI 10.1002/jmv.21088

Published online in Wiley InterScience  
(www.interscience.wiley.com)

Savey et al., 2005]. Several studies, by using molecular biology techniques, provided evidence of a nosocomial patient-to-patient mode of transmission in most of these HCV infection occurring in hemodialysis settings, despite rigorous preventive measures [Le Pogam et al., 1998; Delarocque-Astagneau et al., 2002; Kokubo et al., 2002; Savey et al., 2005]. Important risk factors for acquiring nosocomial HCV infection in patients on hemodialysis seems to be particularly a longer duration of hemodialysis, a high HCV prevalence in the unit and a low personnel/patient ratio (<1/3 or at least 1/4) [Petrosillo et al., 2001].

However, the exact mechanisms of the patient-to-patient transmission of HCV within hemodialysis units have not been clearly identified and they may be different in relation to the different policies followed in each hemodialysis unit for the management of patients [Petrosillo et al., 2001; Fabrizi et al., 2002]. Most authors currently believe that most cases of HCV patient-to-patients transmission can be attributed to lack of implementation of or breaks in infection control procedures [Le Pogam et al., 1998; Petrosillo et al., 2001; Delarocque-Astagneau et al., 2002; Fabrizi et al., 2002; Kokubo et al., 2002; Savey et al., 2005]. The possibility of HCV transmission between patients through the dialysis machines is controversial. However, this possibility cannot be entirely excluded especially in case of contamination of internal components of the machine not accessible to routine disinfection, and in the hemodialysis units in which the disinfection of the machines between treatments is not routinely performed or those in which dialysers and/or dialysis tubing sets are reused [Le Pogam et al., 1998; Delarocque-Astagneau et al., 2002; Fabrizi et al., 2002; Savey et al., 2005].

This study describes an outbreak of acute HCV type 2c infection involving four patients attending an outpatient hemodialysis unit in southern Italy. Molecular analysis of viral isolates in association with an epidemiological investigation was performed to trace the source and the possible routes of transmission of HCV during this outbreak.

## PATIENTS AND METHODS

### Hemodialysis Setting and Procedures

At the time of the outbreak, the unit consisted in a room with 8 dialysis machines in which 32 outpatients regularly underwent maintenance hemodialysis three times weekly (Monday-Wednesday-Friday or Tuesday-Thursday-Saturday) on 1 of the 2 shifts per day (either morning or evening shift). Thus, every machine was used by two persons per day. Normally patients were dialysed on the same shift, but not always on the same machine. No dedicated areas or machines or personnel were used for HCV infected patients. Hemodialysis was carried out using Hospal-INTEGRA<sup>®</sup> dialysis machine. The machines were disinfected with chlorine dioxide (ISTRUMET, Hospal<sup>®</sup>) between each shift and dialysers and tubing sets were disposable and were

never reused. Two nurses took care of eight patients in each shift, but they could also move from patient to patient if needed. No multidose vials were used among patients.

### HCV Infection Monitoring

HCV infection was monitored in all dialysis patients by performing testing for serum alanine aminotransferase (ALT) monthly and for anti-HCV upon admission and then every 6 months. Anti-HCV test was also performed in case of ALT elevation. Prior to the beginning of the outbreak, the prevalence of anti-HCV among the 32 patients attending the unit was 31.2% (10 patients).

### Case Definition, Case Finding and Data Collection

During the routine screening for HCV infection conducted from April 2003 to October 2003 four incident cases of HCV infection were identified in the unit. That the four cases had occurred in a relatively brief period of time led to suspect a nosocomial outbreak. A potential outbreak case-patient was defined as any patient who had showed seroconversion between October 2002 and October 2003 and who had received dialysis in the unit at least 6 months before the detection of the first seroconversion case.

Since in the unit, at the time of the outbreak, the monitoring of HCV infection was based on the detection of anti-HCV only, to identify retrospectively other cases of new infections and the potential source of the outbreak on June 2004 blood samples for anti-HCV and HCV RNA testing were obtained from all the patients who had received dialysis in the unit since April 2002 and from all their household contacts. All healthcare workers employed in the unit underwent periodical testing for blood-borne viruses. A blood sample was also obtained from the one healthcare worker (a doctor) who was known to be anti-HCV positive.

From the medical records, kept constantly for all patients, data on medical and dialysis history, blood transfusion, recent surgical, or medical invasive procedures, intravenous drug use and other parenteral exposure, such as tattoos and piercing, were obtained. Furthermore, the dialysis schedule (day and shift) seating arrangements, type of vascular access, type of dialyser membrane, hemodialysis machine, bleeding episodes, nurse-patient assignment, dialysis equipment maintenance as well as infection control measures were all recorded.

### Virological Analysis

The seroconversions of the patients involved in the outbreak were detected during the routine screening for anti-HCV performed in all patients attending the unit. In the unit, anti-HCV antibodies were detected by using a third generation enzyme immunoassay (Cobas Core Anti-HCV EIA II, Roche Diagnostic Systems, Basel,

Switzerland) and samples that resulted anti-HCV positive were then tested for HCV RNA (COBAS Amplicore, Roche Diagnostic Systems). An in-depth retrospective virological analysis was performed on serum samples obtained on June 2004 from all hemodialysis patients attending the unit, from the household contacts of the patients who had shown a seroconversion and from the only health care worker who was found to be anti-HCV positive.

All serum samples obtained were tested again for anti-HCV by a third generation enzyme immunoassay (AxSYM HCV, version 3.0; Abbott Laboratories, Abbott Park, IL). The viral load in positive serum samples was determined by quantitative reverse transcription (RT)-PCR (HCV Amplicor Monitor, Roche Diagnostics, Milan, Italy), in accordance with the manufacturer's instructions. HCV genotyping was first performed with a commercial reverse-hybridization line probe assay (INNO-LiPA HCV II, Bayer Diagnostics, Milan, Italy) based on the 5'-noncoding region (NCR). The HCV RNA was extracted from serum samples collected in June 2004 using the QIAamp Viral RNA kit (QIAGEN, Hilden, Germany), underwent retrotranscription by random hexamer method and was used to perform molecular analysis. Two-strand direct sequencing was carried out on nested PCR products obtained from the NS5B region and from the hypervariable region 1 (HVR1) encompassing in the E2 gene, as previously reported [Faustini et al., 2005]. Sequencing was performed on ABI Prism 3100, using the BigDye Terminator cycle sequencing kit (Applied Biosystems, Warrington, UK). Sequences of the NS5 regions obtained were aligned by using BLAST with the *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) database (U.S. National Library of Medicine, Bethesda, MD, www.ncbi.nlm.nih.gov) and were able to attribute to the genotype 2c all the HCV from patients who seroconverted. For the amplification of the HVR1 region 2 type specific primers were chosen [Faustini et al., 2005]. The sequences were then aligned with CLUSTAL W software (version 1.5). The mean genetic distance

between nucleotide sequences was calculated using a Kimura 2-parameter distance matrix with a transition/transversion ratio of 2.0. Phylogenetic trees were constructed using the neighbor-joining method, including NS5B and HVR-1 reference sequences (see figure legends) and local epidemiological unrelated HCV 1, 2b, and 2c strains. Bootstrap analysis with 1,000 replications was performed to assess the significance of the nodes; values >85% were considered to be significant. All of the algorithms used were included in MEGA software (version 2.1).

## RESULTS

In October 2002, the anti-HCV seroprevalence in our HD unit was 31.2% (10/32). Between April 2003 and October 2003, four new HCV seroconversions were detected; the first (CT6) in April 2003, second and third (CT2 and CT4, respectively) in August 2003 and the fourth (CT11) in October 2003; thus, raising the total number of anti-HCV positive patients to 14 in the HD unit (Table I).

In all four patients who seroconverted the infection was asymptomatic. In the first patient who showed a seroconversion (CT6), ALT levels that were normal on the date of seroconversion and had always been normal previously, showed an important increase only in the following month. In one of the two patients (CT2) who were found to be anti-HCV on August 2003, ALT levels showed a moderate increase only at the time of seroconversion and they had always been normal previously. The other newly infected patient (CT4) who tested anti-HCV positive on August 2003 had shown an important ALT levels increase on May 2003, but he tested anti-HCV negative in that date; however, his ALT levels had always been normal until April 2003. In these two patients anti-HCV test was performed, and repeated at monthly interval for patient CT 4, as consequence of the detected ALT levels elevation. The last newly infected patient (CT11), who was found to be

TABLE I. Anti-HCV Test Results, Genotype Determination and First Detection of Elevated Alanine Aminotransferase Levels and of HCV RNA in HCV Infected Patients Receiving Dialysis in the Unit (April 2002–October 2003)

Pt	April 2002	October 2002	April 2003	May 2003	June 2003	July 2003	August 2003	September 2003	October 2003
CT 7	Pos	Pos	Pos	NT	NT	NT	NT	NT	Pos
CT 14	Pos	Pos	Pos	NT	NT	NT	NT	NT	Pos
CT 1	Pos	Pos	Pos	NT	NT	NT	NT	NT	Pos
CT 10	Pos	Pos	Pos	NT	NT	NT	NT	NT	Pos
CT 13	Pos	Pos	Pos	NT	NT	NT	NT	NT	Pos
CT 8	Pos	Pos	Pos	NT	NT	NT	NT	NT	Pos
CT 3	Pos	Pos	Pos	NT	NT	NT	NT	NT	Pos
CT 5	Pos	Pos	Pos	NT	NT	NT	NT	NT	Pos
CT 9	Pos	Pos	Pos	NT	NT	NT	NT	NT	Pos
CT 12	Pos	Pos	Pos	NT	NT	NT	NT	NT	Pos
CT 6	Neg	Neg	<b>Pos</b>	* NT †	NT	NT	NT	NT	Pos
CT 2	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	<b>Pos</b> †	* NT	Pos
CT 4	Neg	Neg	Neg	Neg †	Neg	Neg	<b>Pos</b>	* NT	Pos
CT 11	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	* <b>Pos</b>

Pos, anti-HCV test positive; Neg, anti-HCV test negative; NT, not tested for anti-HCV; † denotes the first detection of elevated ALT levels; \* denotes the first HCV RNA detection. Pos in bold denotes the first anti-HCV positive test.

anti-HCV positive on October 2003 (on the occasion of the anti-HCV six-monthly screening), had always shown ALT normal values before seroconversion at the monthly screening routinely performed in the unit (Table I). All patients newly infected showed a positive HCV RNA test after the seroconversion.

No further cases of new HCV infection were detected when the serum samples drawn on June 2004 from all the patients receiving hemodialysis in the unit were tested for anti-HCV and HCV RNA. Genotyping performed by INNO-LiPA revealed that all the patients who had shown a new seroconversion were infected with HCV genotype 2c. Six out of the 10 dialysis patient with chronic HCV infection were infected with genotype 1b, 2 with genotype 2c (CT1 and CT3), and in 2 patients it was not possible to determine the infecting genotype (one refused to give a blood sample and another one deceased before June 2004). Serum HCV RNA levels ranged from 7,000 to 488,000 IU/ml for the four newly infected patients and from 43,000 to >500,000 IU/ml for patients with chronic HCV infection, for which a serum sample was available. The two chronically infected patients harboring genotype 2c had serum HCV RNA titres of 171,000 UI/ml (CT1) and >500,000 IU/ml (CT3). Since in June 2004 all newly infected patients still resulted HCV RNA positive, that is more than 6 months after the detection of their seroconversion, they must be considered as having all developed a persistent HCV infection. These patients continued to be viremic while attending the unit, although their ALT levels were constantly normal, and none of them underwent antiviral therapy.

Figure 1 shows the phylogenetic tree analysis of the NS5B region sequences isolated from all HCV RNA positive patients receiving hemodialysis in the unit (newly infected and chronically infected patients). All four newly infected patients harbored very closely related viral isolates that clustered together with the 2c isolate found in one of the two 2c chronically infected patients, which is consistent with the hypothesis that the outbreak had a single epidemiologic origin (patient CT3). Phylogenetic analysis also revealed that the other patient with chronic infection harboring genotype 2c (CT1) was not associated with the outbreak. The results of the phylogenetic analysis in the HVR1 region, using only genotype 2 sequences, with the majority being 2c collected from GenBank, were consistent with the findings in the NS5B region (Fig. 2).

The results of the epidemiological investigation were also consistent with a patient-to-patient mode of transmission of the infection during the outbreak. The four newly infected patients had never received transfusion of blood or blood products. Two of them (CT2 and CT6) had no exposure to surgical or medical invasive procedures outside the hemodialysis unit, while patient CT4 had undergone dental extraction 2 months before his seroconversion, and patient CT11 had dialysed outside the unit on summer holidays (July and August). None of the newly infected patients were known to have used intravenous drug and none of their household

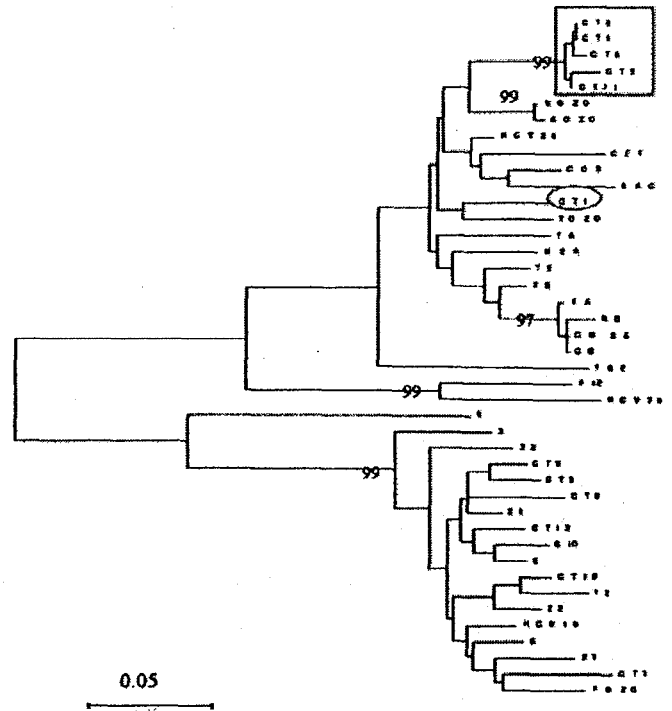


Fig. 1. Phylogenetic tree of NS5B region. The patients involved in the outbreak were indicated with the initials CT and numbered as in the table. Reference genotypes 2b, 2c, and 1b sequences from GenBank are indicated with their accession numbers (for HCV2c AJ291280; for HCV2b AB030907; for HCV 1b AY257435). Local nonrelated patient sequences, including patients with genotypes 2c, 2b, and 1b, are also included. Genetic distance is indicated by a horizontal bar. The numbers at the nodes indicate the frequency with which the node occurred in 1,000 bootstrap replicates; values greater than 95% are indicated.

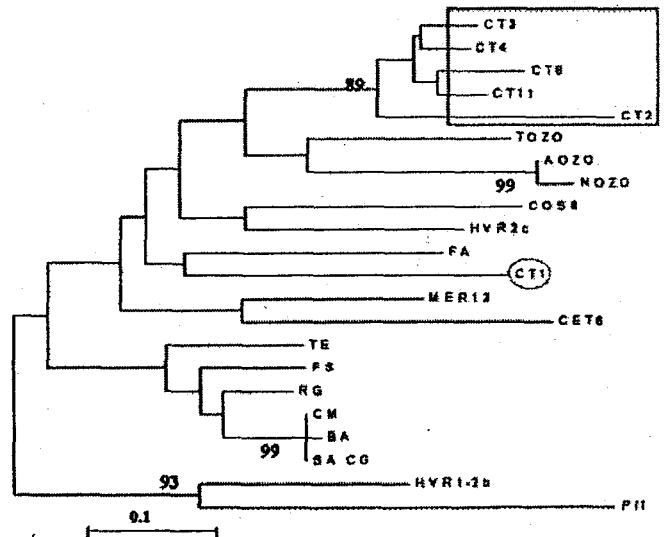


Fig. 2. Phylogenetic tree of HVR1/E2 region. Patients are indicated as in Figure 1. Reference genotypes 2c and 2b GenBank accession numbers are AF 237649 and AB030907, respectively. Local nonrelated patient sequences with genotypes 2c and 2b are also included. Genetic distance is indicated by a horizontal bar. The numbers at the nodes indicate the frequency with which the node occurred in 1,000 bootstrap replicates; values greater than 85% are indicated.

contacts were found to be anti-HCV positive. The only healthcare worker who was anti-HCV positive resulted negative when tested for HCV RNA. All patients infected by closely related genotype 2c isolates (new and old infections: patients CT2, CT3, CT4, CT6, and CT11) received dialysis on the same days (Monday-Wednesday-Friday). Patients CT2, CT3, CT4, and CT6 received dialysis on the morning shift (shift 1) and used different machines. Patients CT11 received dialysis on afternoon shifts but he had shared in several occasions the same machine with patient CT2.

The healthcare workers employed in the unit denied any violation of the standard infection control procedures. After the implementation of the infection control procedures and the use of dedicated machines for anti-HCV positive patients (but not dedicated rooms or personnel), no additional cases of new HCV infection were observed in the unit.

## DISCUSSION

In this study, molecular analysis together with epidemiological investigation provided strong evidence for nosocomial patient-to-patient HCV transmission during an outbreak in a hemodialysis unit. Two potential routes of transmission were identified: horizontal transmission via healthcare workers and/or environmental contamination allowed by breaks in infection control procedures; vertical transmission via the dialysis apparatus. The occurrence of all but one cases of infection with closely related subtype 2c strains in patients who had received dialysis on the same days and the same shift (CT2, CT3, CT4, and CT6) suggests horizontal transmission during care due to breaks in infection control procedures. Several types of breaks in infection control procedures able to facilitate HCV transmission in hemodialysis setting have been suggested, such as absence of hand washing or inconstant glove use [Niu et al., 1992], failure to change gloves between patients [Fabrizi et al., 2002], sharing of multidose vials between patients [Kokubo et al., 2002], and lack of environmental disinfection (surfaces and instruments) [Delarocque-Astagneau et al., 2002; Savey et al., 2005]. Although the healthcare workers employed in the unit denied any violation of the standard infection control procedures, occasional or inadvertent mistakes might have occurred particularly during busy periods or an emergency with a patient. In an environment in which frequently performed percutaneous procedures may contribute through blood spillage to HCV contamination of surfaces and instruments [Caramelo et al., 1999], occasional mistakes could be enough to transmit the virus between patients, particularly if they are immunocompromised. Indeed, patients CT2, CT3, CT4, and CT6 had not always used the same machine, but in several occasions, two of them had shared a given machine with 36 hr of difference. However, vertical transmission via dialysis machines in this group of patients has to be considered very unlikely for two principal reasons: first, after these patients had received dialysis, each machine regularly underwent two

complete cycles of disinfection during the following 36 hr (after the first and second shift, respectively); second, none of patients receiving dialysis in the first shift on the following day had resulted to have acquired a new infection with genotype 2c or other genotypes. On the contrary, vertical transmission via dialysis apparatus between patient CT2 and CT11 could not be quite excluded. These two patients had never received dialysis on the same shift, but in several occasions have shared the same machine in the same day. Apart from patient CT2, none of the other patients infected with closely related 2c strains had had any kind of contact with patient CT11 (dialysis on the same shift or use of the same machines). Thus, even if patient CT11 had received dialysis in another unit on vacation, he had undoubtedly acquired HCV infection in the unit where the outbreak occurred, and with high probability patient CT2 had been the source of his infection. HCV transmission via the dialysis apparatus has been suggested to occur in case of dialysers reuse [dos Santos et al., 1996; Fabrizi et al., 2002] or by dialysate [Sampietro et al., 1994], when the dialysis fluid circuit was not disinfected after each session [Le Pogam et al., 1998]. Transmission has also been suggested to occur in case of potential contamination of internal components of the dialysis machine not accessible for routine disinfection. Some authors [Niu et al., 1992; Delarocque-Astagneau et al., 2002; Savey et al., 2005] have reported wetting of arterial and venous filters due to accidental blood backflow creating a potential contamination of the internal pressure sensing port, which is not accessible for routine disinfection. Thus, two successive episodes of blood backflow in the filters can contribute to the transmission of HCV to another patient. However there has been controversy in literature about the potential role of hemodialysis machines in HCV transmission: several other studies concluded that this route probably is a rare occurrence, playing a minor role or no role at all in the transmission of HCV in hemodialysis settings [Jadoul et al., 1998; Fabrizi et al., 2002; Barril and Traver, 2003]. In the unit where the outbreak occurred, dialysers and tubing sets were disposable and were never reused and disinfection of dialysis machines were performed after each shift. Furthermore episodes of accidental blood backflow into external filter were not reported on patient CT2 medical charts in the days in which he had shared the machine with patient CT11. However, it cannot be excluded that some incidents could have not been registered in the case that the nurses had considered the backflow not sufficient for concern. Alternatively, a break in infection control procedures can be supposed, such as an unsatisfactory environmental cleaning and disinfection between the first and second shift that had resulted in HCV transmission from CT2 to CT11 via contaminated environmental surfaces. A recent study suggests that HCV in dried plasma can cause infection in experimental animals when left at room temperature for  $\geq 16$  hr but not longer than 4 days [Krawczynski et al., 2003].

Since this investigation was retrospective it had some limitations. It was not possible to directly observe the

health care personnel employed in the unit during their day-to-day working in the period the outbreak occurred. Consequently, it was not allowed to verify if in that period there were evident breaks in universal standard precautions during tasks and procedures performed by personnel during the care of the patients and/or in environmental control procedures; thus it was necessary to rely on healthcare workers interview and medical chart review. Both two latter sources of information could have minimized the recognition and the impact of some events able to enhance the probability of HCV transmission. On the basis of the seroconversion data and epidemiological findings, assuming there were no substantial delays in the seroconversion times, the possible chain of transmission of the infection among the hemodialysis patient harboring closely related HCV 2c should have been depicted as that reported in Figure 3. Indeed, it is well known that uremic patients receiving hemodialysis may suffer a degree of immunosuppression and may have a delayed or disturbed HCV antibody response, which results in a prolonged seronegative window phase after infection [Le Pogam et al., 1998; Savey et al., 2005]. Since serum samples obtained from the patients attending the unit at various time points were not stored and thus were no longer available for HCV RNA detection, it was impossible to determine the time in which each patient involved in the outbreak could be considered actually infected and able to transmit the infection. In other words, it was impossible to establish with certainty which patient among CT2, CT4, and CT6 was infected first and consequently when patient CT2 transmitted the infection to patient CT11. Nevertheless, routine monitoring of HCV infection as was performed in the unit, that is screening ALT monthly plus anti-HCV testing upon the admission, then every 6 months and in case of ALT increase, had permitted the detection of the outbreak. However, because of the high risk of HCV transmission in hemodialysis units even through unrecognized cases, particularly in those units where the

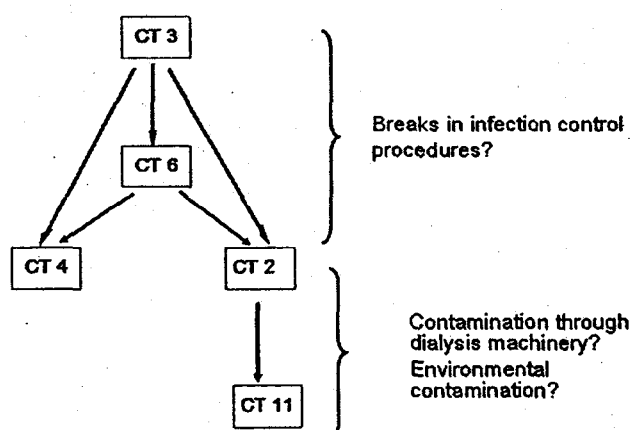


Fig. 3. Scheme of the possible chain and mechanisms of HCV transmission among genotype 2c infected patients involved in the outbreak, assuming there were no substantial delays in seroconversion times.

*J. Med. Virol.* DOI 10.1002/jmv

prevalence of HCV infected patients is high, and considering the high efficacy of an early anti-HCV therapy for newly infected patients [Gursoy et al., 2001], even this strategy may be not optimal. As suggested by other authors [Savey et al., 2005; Hmaied et al., 2006], it seems appropriate to test for HCV RNA any patient showing, at the monthly screening for ALT, a significant enzyme level increase (at least twice the baseline level of the patient) but a negative anti-HCV test and each new patient who enter the unit. To that end, it is necessary to archive monthly at least at  $-20^{\circ}\text{C}$ , just for a brief time period, a serum sample for determination of HCV RNA in case of ALT elevation. However, for two of the newly infected patients (CT6 and CT11), monthly ALT screening did not help the detection of the infections, since their ALT levels had been normal until after seroconversion. Indeed, patient CT11 had dialysed outside the unit for 2 months on summer holidays (July and August 2003) and no data about his ALT levels were available for that period. On the contrary, for the two other newly infected patients (CT2 and CT4) the detection of increased ALT on monthly screening helped the diagnosis by inducing to perform and then to repeat at monthly interval (for patient CT4) the anti-HCV test. If on the occasion of the detection of an ALT levels increase in patient CT4 (May 2003) the detection of HCV RNA had been performed, the diagnosis of HCV infection probably could have been made 3–4 months early. While these facts underline uncertainty in depicting the chain of transmission in this outbreak, they also stress the importance of testing for HCV RNA whenever a significant ALT increase occurs.

After the implementation of the infection control procedures and the use of dedicated machines for anti-HCV positive patients (since January 2004), no additional cases of new HCV infection were observed in the unit. The decision of using dedicate machines for anti-HCV positive patients, that became operative from January 2004, was taken by the hospital managers according to published guidelines [Barril et al., 2004]. Isolation policy of HCV infected patients on maintenance hemodialysis by rooms, machines, and personnel, is controversial. At present, The Centers for Disease Control and Prevention does not recommend the use of dedicated machines or patient isolation [Anonymous, 2001], however in some European countries, including Italy, a good proportion of the hemodialysis units, particularly those with high prevalence of infection, currently adopt isolation strategy for HCV infected patients [EBPGEH and ERA, 2002; Fabrizi et al., 2002; Barril and Traver, 2003; Barril et al., 2004; Di Napoli et al., 2006]. Notwithstanding the high prevalence of infection, before the outbreak occurred in the unit, no isolation measures were adopted for HCV positive patients. This was due to the lack of room for patients and to the unavailability of further hospital personnel. There are convincing arguments supporting a policy of isolation of HCV infected patients. Some prospective studies have clearly showed an important



decrease in the incidence of HCV infections by a complete isolation of the infected patients [Saxena et al., 2003]. Other studies reported a reduced number of seroconversions in unit in which all patients had a dedicated machine or some machine were dedicated for HCV infected patients [Shamshirsaz et al., 2004]. The use of dedicated machine for HCV infected patients, could be useful in units with high prevalence of HCV infection and with a low patient-personnel ratio [Barril and Traver, 2003]. On the other hand, several considerations oppose to the need to isolate HCV infected patients. HCV infectivity is lower than that of HBV. An effective isolation policy would include reliable diagnostic methods to detect HCV infected patients; this means that it would be necessary to routinely test all patients for HCV RNA. Furthermore, several investigators have been able to significantly reduce the number of seroconversion by only reinforcing infection control measures [Jadoul et al., 1998]. Finally, others authors showed the HCV transmission can occur despite the use of dedicated machine because of breaks in infection control procedures [Hmaied et al., 2006]. Even if the debate over the need for isolation policy is not resolved, there is a consensus that using dedicated machines for HCV infected patients does not exclude reinforcement of universal precautions [Delarocque-Astagneau et al., 2002; Barril and Traver, 2003].

In conclusion, molecular analysis and epidemiological investigation suggested a patient-to-patient HCV transmission in this outbreak mainly due to breaks in infection control procedures even if a related-machine transmission cannot be quite excluded in one case.

Universal infection control precautions remain the key stone in the prevention of nosocomial HCV transmission in hemodialysis units. They include avoidance of sharing equipment and devices, frequently hand washing and proper gloves use, cleaning and disinfection with virucidal agents of all the unit (instruments, machine, floor, surfaces). All these measures require continuous education, written procedures and adequate patient-personnel ratio.

## REFERENCES

- Anonymous. 2001. Recommendations for preventing infections among chronic hemodialysis patients. *MMWR Recomm Rep* 50:1-43.
- Barril G, Traver JA. 2003. Decrease in the hepatitis C virus (HCV) prevalence in hemodialysis patients in Spain: Effect of time, initiating HCV prevalence studies and adoption of isolation measures. *Antiviral Res* 60:129-134.
- Barril G, González -Parra E, Alcázar R, Arenas D, Campistol JM, Caramelo C, Carrasco M, Carreño V, Espinosa M, García Valdecasas J, Górriz JL, López MD, Martín L, Ruiz P, Terruel JL. 2004. Guía sobre enfermedades víricas en hemodiálisis. *Nefrología* 24: 43-66.
- Caramelo C, de Sequera P, Lopez MD, Ortiz A. 1999. Hand-borne mechanisms of dissemination of hepatitis C virus in dialysis units: Basis for new addenda to the present preventive strategies. *Clin Nephrol* 51:59-60.
- Delarocque-Astagneau E, Baffoy N, Thiers V, Simon N, de Valk H, Laperche S, Courouce AM, Astagneau P, Buisson C, Desenclos JC. 2002. Outbreak of hepatitis C virus infection in a hemodialysis unit: potential transmission by the hemodialysis machine? *Infect Control Hosp Epidemiol* 23:328-334.
- Di Napoli A, Pezzotti P, Di Lallo D, Petrosillo N, Trivelloni C, Di Giulio S. 2006. Epidemiology of hepatitis C virus among long-term dialysis patients: A 9-year study in an Italian region. *Am J Kidney Dis* 48:629-637.
- dos Santos JP, Loureiro A, Cendoroglo Neto M, Pereira BJ. 1996. Impact of dialysis room and reuse strategies on the incidence of hepatitis C virus infection in haemodialysis units. *Nephrol Dial Transplant* 11:2017-2022.
- European Best Practice Guidelines Expert Group on Hemodialysis, European Renal Association. 2002. Section VI. Haemodialysis-associated infection. *Nephrol Dial Transplant* 17:72-87.
- Fabrizi F, Poordad FF, Martin P. 2002. Hepatitis C infection and the patient with end-stage renal disease. *Hepatology* 36:3-10.
- Faustini A, Capobianchi MR, Martinelli M, Abbate I, Cappiello G, Perucci CA. 2005. A cluster of hepatitis C virus infections associated with ozone-enriched transfusion of autologous blood in Rome, Italy. *Infect Control Hosp Epidemiol* 26:762-767.
- Gursoy M, Gur G, Arslan H, Ozdemir N, Boyacioglu S. 2001. Interferon therapy in haemodialysis patients with acute hepatitis C virus infection and factors that predict response to treatment. *J Viral Hepat* 8:70-77.
- Hmaied F, Ben Mamou M, Saune-Sandres K, Rostaing L, Slim A, Arrouji Z, Ben Redjeb S, Izopet J. 2006. Hepatitis C virus infection among dialysis patients in Tunisia: Incidence and molecular evidence for nosocomial transmission. *J Med Virol* 78:185-191.
- Jadoul M, Cornu C, van Ypersele de Strihou C. 1998. Universal precautions prevent hepatitis C virus transmission: A 54 month follow-up of the Belgian Multicenter Study. The Universitaires Cliniques St-Luc (UCL) Collaborative Group. *Kidney Int* 53:1022-1025.
- Kokubo S, Horii T, Yonekawa O, Ozawa N, Mukaide M. 2002. A phylogenetic-tree analysis elucidating nosocomial transmission of hepatitis C virus in a haemodialysis unit. *J Viral Hepat* 9:450-454.
- Krawczynski K, Alter MJ, Robertson BH, Lu L, Spelbring JE, McCaustland KA. 2003. Environmental stability of hepatitis C virus (HCV): Viability of dried/stored HCV in chimpanzee infectivity studies. In: Program and abstracts of the 54th annual meeting of the American Society for the study of liver disease. Philadelphia: WB Saunders [abstract 555].
- Le Pogam S, Le Chapiro D, Christen R, Dubois F, Barin F, Goudeau A. 1998. Hepatitis C in a hemodialysis unit: Molecular evidence for nosocomial transmission. *J Clin Microbiol* 36:3040-3043.
- Niu MT, Alter MJ, Kristensen C, Margolis HS. 1992. Outbreak of hemodialysis-associated non-A, non-B hepatitis and correlation with antibody to hepatitis C virus. *Am J Kidney Dis* 19:345-352.
- Petrosillo N, Gilli P, Serraino D, Dentico P, Mele A, Ragni P, Puro V, Casalino C, Ippolito G. 2001. Prevalence of infected patients and understaffing have a role in hepatitis C virus transmission in dialysis. *Am J Kidney Dis* 37:1052-1055.
- Sampietro M, Graziani G, Badalamenti S, Salvadori S, Caldarelli R, Como G, Fiorelli G. 1994. Detection of hepatitis C virus in dialysate and in blood ultrafiltrate of HCV-positive patients. *Nephron* 68:140.
- Savey A, Simon F, Izopet J, Lepoutre A, Fabry J, Desenclos JC. 2005. A large nosocomial outbreak of hepatitis C virus infections at a hemodialysis center. *Infect Control Hosp Epidemiol* 26:752-760.
- Saxena AK, Panhotra BR, Sundaram DS, Naguib M, Venkateshappa CK, Uzzaman W, Mulhim KA. 2003. Impact of dedicated space, dialysis equipment, and nursing staff on the transmission of hepatitis C virus in a hemodialysis unit of the middle east. *Am J Infect Control* 31:26-33.
- Shamshirsaz AA, Kamgar M, Bekheirnia MR, Ayazi F, Hashemi SR, Bouzari N, Habibzadeh MR, Pourzahedgilani N, Broumand V, Shamshirsaz AH, Moradi M, Borghei M, Haghighi NN, Broumand B. 2004. The role of hemodialysis machines dedication in reducing Hepatitis C transmission in the dialysis setting in Iran: A multicenter prospective interventional study. *BMC Nephrol* 5:13.

7

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 2008. 1. 21	新医薬品等の区分 該当なし	機構処理欄
一般的名称	(製造承認書に記載なし)			De Silva AN, Muddu AK, Iredale JP, Sheron N, Khakoo SI, Pelosi E. J Med Virol. 2008 Feb;80(2):283-8.	公表国	
販売名(企業名)	合成血「日赤」(日本赤十字社) 照射合成血「日赤」(日本赤十字社) 合成血-LR「日赤」(日本赤十字社) 照射合成血-LR「日赤」(日本赤十字社)		研究報告の公表状況		英国	
研究報告の概要	○サウスハンプシャーにおける急性E型肝炎国内感染率の予想外の高さ:ルーチン検査を行う時期か? 先進国特有のE型肝炎とは、流行地域への渡航歴のない者に発現したE型肝炎である。近年、英国を含む経済的に発展した多くの国に新興する疾病と認識されている。しかし、E型肝炎は現在も稀な疾患と考えられており、E型肝炎のルーチンな臨床検査は実施されていない。英国サウスハンプシャーの単一施設において2005年6月から13ヶ月の期間に診断されたE型肝炎13例について報告する。これらの患者は、ルーチンのE型肝炎血清検査を導入した新規スクリーニング手順開始後に特定された。患者は中年～高齢者で、男性の方が多かった。4名(31%)は入院を要した。RT-PCR法にて確定された症例はいずれも、英国のブタに蔓延しているHEVと相同性の高いE型肝炎ウイルス(HEV)遺伝子型3を保有した。急性肝炎発症前の2ヶ月間によく加熱しない豚肉製品を食べたり、ブタと密接な接触を持った記憶のある患者はいなかった。これに対して、同一期間中、A型肝炎の診断は2例のみ、B型肝炎の診断は4例であった。これらのデータは、原因不明の急性肝疾患を発症し、関連する渡航歴のない患者全員にルーチンのE型肝炎検査を導入することの重要性を示している。ルーチン検査は、急性肝疾患患者の臨床管理を改善しながら、E型肝炎の疫学を明らかにすることができる。					使用上の注意記載状況・その他参考事項等  合成血「日赤」 照射合成血「日赤」 合成血-LR「日赤」 照射合成血-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  英国サウスハンプシャーの単一施設において2005年6月から13ヶ月の期間にE型肝炎13例が発生し、同一期間中A型肝炎は2例、B型肝炎は4例であったことから、原因不明の急性肝疾患を発症し、関連する渡航歴のない患者全員にルーチンのE型肝炎検査を実施することの重要性が示されるとの報告である。	今後の対応  日本赤十字社では、厚生労働科学研究「E型肝炎の感染経路・宿主域・遺伝的多様性・感染防止・診断・治療に関する研究班」と共同して、献血者におけるHEV感染の疫学調査を行っている。北海道における輸血HEV感染報告を受け、試験的に北海道では研究的NATを行うなど安全対策を実施している。また、輸血による肝炎ウイルス感染防止のため、血液中のALT値61IU/L以上の血液を輸血用から排除している。今後もHEV感染の実態に関する情報の収集及び安全対策に努める。				

