

薬食発0801第1号
平成24年8月1日

各都道府県知事 殿

厚生労働省医薬食品局長

「献血血液の研究開発等での使用に関する指針」について

国民の善意の献血によって得られる血液を主たる原料とする血液製剤は有限で貴重なものであり、研究開発等の使用に当たっても、倫理的な観点からの慎重な配慮が必要である。血液製剤の適応外使用により、本来の効能及び効果を目的として供給される血液製剤が不足したり、医療に支障を生じたりすることがあってはならない。

しかしながら、研究開発等に当たり、人の血液を使用せざるを得ない場合もあるため、研究開発等が本来の効能及び効果を目的とした血液製剤の供給に支障を生じないように、今般、「献血血液の研究開発等での使用に関する指針」を策定したので、通知する。

また、本指針の運用に資するため、指針の「第6 細則」に基づき、細則を定めたので、併せて通知する。

(注) 別添については、指針と細則との関係をわかりやすく示すため、指針の該当部分に細則を挿入する形式としている。(以下、指針及び細則を合わせて「指針」という。)

本指針に基づいて、研究開発等で献血血液の使用を希望する者を、別途公募する方針であり、下記事項にご留意の上、貴管内医療機関、日本赤十字社血液センター及び市町村において、血液製剤の安全性向上等の研究に携わる者に本指針の周知をお願いする。なお、本指針は、公募が開始された時から適用するものとする。

記

1. 指針運用窓口の設置について

指針運用上の疑義照会等がある場合には、以下の連絡先において受け付け、特に技術的に専門的な事項にわたる内容については、必要に応じ、専門家の意見も踏まえ回答する。

なお、疑義照会の受け付けは、原則として、ファックス又は、E-mailで行うものとする。

(連絡先)

厚生労働省医薬食品局血液対策課

住所 : 〒100-8916 東京都千代田区霞が関1-2-2
電話 : 03-3595-2395
FAX : 03-3507-9064
E-mail : ketsueki2@hlw.go.jp

2. 指針に基づく献血血液の有効利用に関する公募について

指針運用窓口において、一定期間疑義照会を受け付けた後に、指針に基づく献血血液の有効利用に関する公募を別途行うこととするので、その際は、改めて関係機関等への周知をお願いしたい。

献血血液の研究開発等での使用に関する指針

血液製剤は、国民の善意の献血によって得られる血液（以下「献血血液」という。）を主たる原料とする貴重なものであり、「安全な血液製剤の安定供給の確保等に関する法律（昭和31年法律第160号。以下「血液法」という。）においても、その適正な使用が求められている。血液製剤は、本来、患者の治療を目的として製造され、使用されるものであるが、血液製剤の製造に伴って副次的に得られたもの及び本来の用途に適しない又は適しなくなったものも含め、輸血の有効性・安全性の向上のための研究、検査試薬の製造、品質管理試験等（以下「研究開発等」という。）に際し、使用せざるを得ない場合がある。

献血血液が研究開発等に使用される場合にあっては、倫理的な観点からの慎重な配慮が求められる。また、献血血液の研究開発等での使用により、治療のために供給される血液製剤が不足して、医療に支障が生じることがあってはならない。

一方で、検査で不適合となった献血血液や、有効期限の切れた血液製剤を研究開発等に使用することは、献血者の善意を無駄にせず、有効利用につながる意義もある。

このような状況を踏まえ、ここに献血血液の研究開発等での使用に関する指針を定めることとする。

第1 基本的な考え方

1 目的

本指針は、献血血液が、国民の善意によって得られる貴重なものであることを踏まえ、献血血液の研究開発等での使用について、関係者が遵守すべき事項を定め、献血血液が適正に使用されることを目的とする。

2 適用範囲

本指針は、献血血液を、研究開発等で使用する場合を対象とする。なお、医療機関における治療や臨床研究を目的とした、患者への血液製剤の適応外使用については、本指針の対象としない。

3 研究開発等に使用される可能性がある献血血液

研究開発等に使用される可能性がある献血血液は以下のとおりである。

① 血液製剤の規格に適合しない血液

具体例：検査等により不適合となった血液、有効期限切れの血液

② 血液製剤の製造に伴って副次的に得られるもの

具体例：検査用検体の残余血液、保管年限（11年）を超えた調査用の血液、
血漿分画製剤の製造過程で得られた廃棄成分

③ 血液製剤としての規格に適合する血液

4 献血血液を研究開発等に使用できる者

献血血液は、採血事業者により採血され、保管・管理されている。また、血液製剤（輸血用血液製剤及び血漿分画製剤）の製造過程にある原料血液は、血液製剤製造販売業者により保管・管理されている。そのため、献血血液は、採血事業者又は血液製剤製造販売業者が占有しているが、献血血液が国民の善意の行為によってしか得られないものであり、国民は患者の治療に役立つことを目的として血液を提供することに鑑みると、理念的には国民の共有財産とも考えられる。そのため、献血者の理解が得られ、かつ、血液製剤の有効性・安全性の向上又は国民の公衆衛生の向上に資する目的であれば、献血血液の研究開発等への使用については、一定の手続の下、可能な限り多くの者による有効利用が認められるべきである。

第2 献血血液を用いることができる研究開発等

1 以下に掲げる研究開発等については、第3以降に記載されている所定の手続を経ることにより、第1の3に記載された献血血液を用いることができる。

(ア) 血液製剤の有効性・安全性及び献血の安全性の向上を目的とした使用

血液製剤の安全性については、採血時の問診、各種感染症に対するスクリーニング検査等、様々な取組がされており、その向上への不断的な努力が求められている。また、血液製剤の製造・使用に関する新たな技術の導入に際しては、血液製剤の有効性が低下する可能性も否定できないことから、その影響を十分に確認する必要がある。このような状況を踏まえると、血液製剤の有効性・安全性及び献血の向上を目的とした使用については認められるべき

であり、所定の条件を満たし、かつ、所定の手続を経た場合において、以下に記載する目的のため、献血血液を用いることができるものとする。なお、具体例に記載のないものであっても、その趣旨・目的等に照らし適切である場合には、献血血液を使用することができる。

① 研究開発

具体例：人工赤血球の開発、血小板製剤の有効期限に関する研究、検査機器の開発

② 品質管理試験

具体例：血液製剤の製造に必要な検査機器の精度管理用コントロール血清

③ 検査試薬

具体例：血液型判定試薬、抗血小板抗体試薬、教育目的の検査実習での使用

④ 疫学調査・研究

具体例：血液を通じて感染するおそれがある病原体の疫学研究

⑤ その他

具体例：血液フィルターの性能評価、採血基準に関する評価

(イ) 広く国民の公衆衛生の向上を目的とした使用

人の血液の中には様々なたんぱく質等の物質が含まれており、疾病の診断、病態の解明、疫学研究等、疾病の克服や健康状態の改善に重要な役割を果たしている。このような状況を踏まえると、広く国民の公衆衛生の向上を目的とした使用については認められるべきであり、所定の条件を満たし、かつ、所定の手続を経た場合において、以下に記載する目的のため、献血血液を使用することができるものとする。なお、具体例に記載のないものであっても、その趣旨・目的等に照らし適切である場合には、献血血液を使用することができる。

① 研究開発

具体例：新たな診断薬の開発

② 品質管理試験

具体例：新生児スクリーニング検査の精度管理用コントロール血清

③ 検査試薬

具体例：体外診断薬の試薬

④ 医薬品製造

具体例：培地への血漿しょうじょうの使用、安定化剤としてのアルブミンの使用

⑤ 疫学調査・研究

具体例：過去の感染症の流行状況調査

⑥ その他

第3 献血者への対応

1 インフォームド・コンセントについて

献血者は、自らの血液が患者への治療に役立てられることを期待し、献血を行うものであるため、献血者に対し、献血血液が研究開発等へ使用される可能性があることについて、献血の実施前に文書による説明を行い、同意を得る必要がある。また、「疫学研究に関する倫理指針」（平成19年文部科学省・厚生労働省告示第1号）等の関連指針の対象となる研究を実施する場合には、当該関連指針におけるインフォームド・コンセントに係る規定が遵守されなければならない。

2 個人情報の保護について

採血事業者及び血液製剤製造販売業者は、個人情報を取り扱う場合において、「個人情報の保護に関する法律」（平成15年法律第57号）を遵守し、研究開発等の利用のために献血血液を使用する又は第三者に提供する場合は、匿名化（連結不可能匿名化又は連結可能匿名化であって対応表を提供しない場合をいう。）を行い、献血血液から献血者を特定できなくするための措置を講じなければならない。ただし、血液製剤の有効性・安全性の向上及び公衆衛生の向上等の目的のため、個人情報の利用が不可欠である場合であって、インフォームド・コンセントの受領も含め、「個人情報の保護に関する法律」及び当該研

究開発等に係る関連指針の規定に基づき実施される場合においては、この限りでない。

<注>

連結不可能匿名化とは、個人を識別できないように、その人と新たに付された符号又は番号の対応表を残さない方法による匿名化をいう。

連結可能匿名化とは、必要な場合に個人を識別できるように、その人と新たに付された符号又は番号の対応表を残す方法による匿名化をいう。

3 ヒト遺伝子解析・検査等について

輸血による副作用を防止する観点から、献血血液に対し、赤血球型、白血球型（HLA 型）、血小板型及び血漿たんぱくに対する遺伝子検査を実施する場合がある。このような限定的な遺伝子検査を実施するに当たっては、献血者に対し、献血の実施前に文書による説明を行い、同意を得ることが必要である。また、献血血液を用いて上記以外のヒト遺伝子解析・検査等を実施する場合には、当該献血者に対し、個別に内容を説明し、同意を得る必要がある。さらに、献血血液を用いたヒトゲノム・遺伝子解析研究を実施する場合は、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」（平成 16 年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第 1 号）を遵守しなければならない。

第 4 献血血液の研究開発等への使用の手続

献血血液の研究開発等への使用に際しては、以下の手続を経るものとする。

1 薬事・食品衛生審議会薬事分科会血液事業部会運営委員会（以下「血液事業部会運営委員会」という。）での事前評価

① 血液事業部会運営委員会における事前評価を必要とする場合

以下のいずれかに該当する場合は、当該使用の可否について、血液事業部会運営委員会において事前に評価を行う。ただし、血液製剤の安全性の向上のための技術開発及び献血者の保護等を行うことは、血液法で定められた採血事業者及び血液製剤製造販売業者の責務であることから、血液製剤の有効性・安全性又は献血の安全性の向上を目的として採血事業者又は血液製剤製造販売業者が使用する場合は、この限りでない。

- i. 使用目的が、第 2 の 1 (ア)④の「疫学調査・研究」又は第 2 の 1 (イ)の「広く国民の公衆衛生の向上を目的とした使用」に該当する場合。
- ii. 使用者が、営利を目的とした者である場合。
- iii. 使用する献血血液が、第 1 の 3 ③の「血液製剤としての規格に適合する血液」に該当する場合。
- iv. 使用方法に、ヒト遺伝子解析・検査等が含まれる場合。
- v. その他、血液事業部会運営委員会での評価が適切と見られる場合。

② 血液事業部会運営委員会での評価事項

血液事業部会運営委員会では、特に以下の観点から、献血血液の研究開発等への使用の妥当性について、評価を行う。

- i. 使用目的
(留意点) 血液製剤の有効性・安全性及び献血の安全性の向上又は広く国民の公衆衛生の向上を目的とした使用であることが明らかでなければならない。
- ii. 使用する献血血液
(留意点) 血液製剤としての規格に適合する血液の使用は限定的でなければならない。使用する場合においては、その目的を達成するため、当該製剤以外では代替できないことが明らかでなければならない。また、献血血液に対する感染症検査が陽性となった血液については、感染拡大防止の観点から、血液製剤の安全性向上を目的とした使用を除き、原則、用いてはならない。
- iii. 使用量
(留意点) 血液製剤としての規格に適合する血液を使用する場合においては、血液製剤の安定供給に支障が生じないよう特段に配慮しなければならない。検査等により不適合となった血液や血液製剤の製造に伴って副次的に得られるものを用いる場合においても、特定の者に使用量が偏ることがないよう、配慮しなければならない。また、使用量が多くなることで、採血事業者及び血液製剤製造販売業者に過度の業務負荷がかかる

かり、血液製剤の供給の遅滞等、医療に支障が生じることがあってはならない。

iv. 使用者

(留意点) 本指針及び関連指針等を遵守し、献血血液の使用が適切に行われる体制が整備されていなければならない。なお、使用者とは、研究開発等の主たる実施者であり、共同研究等の場合においては、研究代表者を意味する。

v. 献血者からのインフォームド・コンセントの受領状況

(留意点) 当該使用に係る献血者からのインフォームド・コンセントの受領が、本指針及び関連指針等の規定に照らし、適切にされていなければならない。

vi. 倫理面への配慮

(留意点) 研究対象者に対する人権擁護上の配慮がなされ、かつ、疫学研究が行われる場合は「疫学研究に関する倫理指針」が、ヒトゲノム・遺伝子解析研究が行われる場合は「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」が、その他の研究が行われる場合は「臨床研究に関する倫理指針」(平成20年厚生労働省告示第415号)の第2「研究者等の責務等」及び第3「倫理審査委員会」に規定する事項が遵守されていなければならない。

③ 血液事業部会運営委員会での評価方法

血液事業部会運営委員会での評価に際しては、必要に応じ参考人を招致することができる。また、企業の営業上の秘密等に配慮し、必要に応じ、使用者を匿名化することや、評価を非公開とすることができる。

【細則】

評価結果は、次のいずれかによる。

(1)承認、(2)修正の上で承認、(3)却下、(4)既承認事項の取消、(5)保留

血液事業部会運営委員会事務局は、厚生労働省医薬食品局血液対策課に置き、次の事項について採血事業者又は血液製剤製造販売業者に速やかに評価

結果通知書をもって通知するものとする。(1)評価対象の研究、(2)評価日、(3)当該研究に対する血液事業部会運営委員会の評価結果、(4)「承認」以外の場合の理由等、(5)その他必要事項

④ 血液事業部会運営委員会での評価を要さない研究開発等

第4の1①に掲げる場合以外の研究開発等への使用については、必ずしも血液事業部会運営委員会での事前の評価は必要としない。このような場合、採血事業者及び血液製剤製造販売業者においては、第4の1②の評価事項を参照に、献血血液の研究開発等への使用について自ら評価を実施するとともに、その使用状況について、定期的に血液事業部会運営委員会に報告するものとする。

2 使用の申請方法

献血血液の研究開発等への使用を希望する者は、採血事業者又は血液製剤製造販売業者に対し、使用を希望する旨の申請書を提出する。採血事業者及び血液製剤製造販売業者は、献血血液の研究開発等への使用を希望する者からの申請を受け付ける窓口を設け、第4の1①に掲げる場合の申請については、採血事業者又は血液製剤製造販売業者の見解を付して、厚生労働省に送付するものとする。第4の1①に掲げる場合以外の研究開発等への使用については、使用目的や使用量等を踏まえ、採血事業者及び血液製剤製造販売業者において評価を実施し、適切に対応するものとする。

【細則】

献血血液の研究開発等への使用を希望する者は、各施設における倫理審査委員会の了承及び施設長の許可を得た上で、申請書(様式1)に研究計画書、献血者への説明同意文書(献血時に研究開発等へ使用される可能性があることについて事前に同意が得られており、かつ、他の関係指針等で同意文書が必要とされていない場合を除く)、倫理審査委員会での審査結果及び施設長の許可書を付して、採血事業者又は血液製剤製造販売業者に対して申請するものとする。

研究計画に変更又は追加がある場合においては、変更・追加申請書(様式2)に変更した研究計画書を付して、採血事業者又は血液製剤製造販売業者に対して申請するものとする。

また、その使用状況及び研究成果については、研究終了時、及び、関連指針に準じた頻度で定期的に、採血事業者又は血液製剤製造販売業者を通じて、血液事業部会運営委員会に報告書（様式3）を提出するものとする。

なお、献血血液の研究開発等への使用に関する公募及び事前評価を行うため、血液事業部会運営委員会における事前評価は適宜開催する。事前評価を必要としない研究については、採血事業者及び血液製剤製造販売業者が適宜評価し、その結果を血液事業部会において報告するものとする。

3 費用の徴収

採血事業者及び血液製剤製造販売業者が、献血血液を第三者に提供する場合においては、実費程度の費用を徴収することができる。

第5 その他

1 市場に流通している血液製剤を用いた研究開発等

市場に流通している血液製剤が研究開発等に使用される場合においても、血液法の基本理念に鑑み、適切に使用されなければならない。また、血液製剤の安定供給に支障が生じることがあってはならない。血液製剤の製造販売業者においては、当該使用に疑義が生じた場合は、厚生労働省に適宜照会するものとする。

2 残余血液が生じた場合への対応

献血血液を研究開発等に使用する者は、当該献血血液に残余が生じた場合、「廃棄物の処理及び清掃に関する法律」（昭和45年法律第137号）等の関連法規を遵守し、適切に処理しなければならない。また、採血事業者又は血液製剤製造販売業者から提供された献血血液を、無断で第三者に譲渡してはならない。

3 危害の防止のため報告

献血血液を研究開発等に使用する者は、当該献血血液により保健衛生上の危害が発生し、又は拡大するおそれがあることを知ったときは、直ちに厚生労働省に報告しなければならない。

4 不適切な使用への対応

献血血液の研究開発等への使用において、本指針に照らし不適切な使用等

が認められた場合は、必要に応じ、血液事業部会運営委員会において対応につき審議する。

5 献血血液を使用した疫学研究の実施に係る留意事項

献血血液を使用した疫学研究の実施は、血液の安全性の向上のみならず、医学の発展や国民の健康の保持増進に多大な役割を果たすことが期待される反面、多くの献血者の血液を用いる必要があることや、その結果が献血者へ及ぼす影響に鑑みると、特段の配慮が求められる。そのため、献血血液を使用した疫学研究を実施する場合においては、以下の点が遵守されなければならない。

- ① 「疫学研究に関する倫理指針」の対象となる疫学研究を実施する場合には、当該指針が遵守されること。疫学研究であって、ヒトゲノム・遺伝子解析研究を実施する場合には、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」が遵守されること。
- ② 血液の安全性の向上を目的とした研究にあっては、研究の実施者に採血事業者又は血液製剤製造販売業者が参画していること。
- ③ 当面の間、採血事業者、血液製剤製造販売業者、国若しくは地方自治体が設置する研究機関により実施される研究又は公的補助金を受け実施される研究であること。

6 細則

本指針に定めるもののほか、必要に応じ、本指針の施行に関する細則を別に定める。

7 指針の見直し

必要に応じ、又は施行後5年を目途として、献血血液の研究開発等への使用状況を踏まえ、本指針の見直しの検討を行うものとする。

献血血液の研究開発等での使用に関する指針に基づく研究実施申請書

平成〇〇年〇〇月〇〇日提出

採血事業者
製造販売業者 御中

研究責任者 氏名 印
所属
職名

研究開発等課題名 (研究開発等期間)	課題: (平成〇〇年〇〇月～平成〇〇年〇〇月)
連絡先	氏名: 所属・職: 電話: e-mail:
研究の種類	<input type="checkbox"/> 疫学研究に関する倫理指針に該当 <input type="checkbox"/> ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に該当 <input type="checkbox"/> その他(具体的に:)
共同研究施設の有無	<input type="checkbox"/> 有(具体的に:) <input type="checkbox"/> 無
献血血液の使用目的	<input type="checkbox"/> ①血液製剤の有効性・安全性及び献血の安全性の向上 <input type="checkbox"/> ②広く国民の公衆衛生の向上を目的とした使用
使用する献血血液の区分	<input type="checkbox"/> ①血液製剤の規格に適合しない血液(検査等により不適合となった血液、有効期限切れの血液)(感染症検査: <input type="checkbox"/> 陽性 <input type="checkbox"/> 陰性) <input type="checkbox"/> ②血液製剤の製造に伴って副次的に得られるもの(検査用検体の残余血液、保管年限を超えた調査用の血液、血漿分画製剤の製造過程で得られた廃棄画分) <input type="checkbox"/> ③血液製剤としての規格に適合する血液(この場合は、当該製剤以外では代替できない理由を以下に記載) 【 】
使用する献血血液の種類と量	<input type="checkbox"/> 使用する献血血液の区分が①又は③の場合はその種類とバッグ数(既に採取されている血液については、その採取時期) 【 】 <input type="checkbox"/> 使用する献血血液の区分が②の場合は、その種類・量・人数(既に採取されている血液については、その採取時期)

使用者の区分	【 】 <input type="checkbox"/> 採血事業者又は血液製剤製造販売業者 <input type="checkbox"/> 上記以外の営利を目的とした者 <input type="checkbox"/> その他(具体的に: 例 大学研究機関等)
使用者が適切に使用できる体制	<input type="checkbox"/> 献血血液を適切に管理する体制が整備されている。(フリーザー等) <input type="checkbox"/> 残余が生じた場合の廃棄処分が適切に実施できる体制、又は、第三者に廃棄を委託できる体制が整備されている。 <input type="checkbox"/> 研究責任者が所属する施設において倫理審査委員会が設置されており、倫理審査委員会から了承が得られている。 <input type="checkbox"/> 「厚生労働科学研究による利益相反の管理に関する指針」に準じて、COI委員会等が設置され、当該研究について了承されている。 <input type="checkbox"/> 匿名化されていない個人情報を取り扱う場合には、個人情報を保護できる体制が整備されている。(情報の保管と終了後に廃棄又は処理の方法の設定、取扱者の範囲の指定等) <input type="checkbox"/> 施設長からの許可が出ている。
<input type="checkbox"/> 申請書の開示: 可 <input type="checkbox"/> 申請書の開示: 部分的に可(その内容<詳細に記載>:) <input type="checkbox"/> 申請書の開示: 不可	
申請書の開示が不可の時、その理由:	<input type="checkbox"/> 研究参加者の人権に支障が生じる可能性がある。 <input type="checkbox"/> 研究の獨創性に支障が生じる可能性がある。 <input type="checkbox"/> 知的財産権の保護に支障が生じる可能性がある。 <input type="checkbox"/> その他(詳細に記載:)
研究内容の概要(150字以上200字以内)	
添付書類: <input type="checkbox"/> 研究実施計画書 <input type="checkbox"/> 説明同意文書 <input type="checkbox"/> 倫理審査委員会の結果 <input type="checkbox"/> 施設長の許可文書 <input type="checkbox"/> その他()	
備考	

変更・追加申請書

平成〇〇年〇〇月〇〇日提出

採血事業者
製造販売業者 御中

研究責任者 氏名
所属
職名
印

研究開発等課題名 (研究開発等期間)	課題： (平成〇〇年〇〇月～平成〇〇年〇〇月)
連絡先	氏名： 所属・職： 電話： e-mail:
研究の種類	<input type="checkbox"/> 疫学研究に関する倫理指針に該当 <input type="checkbox"/> ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に該当 <input type="checkbox"/> その他(具体的に)
変更・追加の種類	<input type="checkbox"/> 研究期間の変更 <input type="checkbox"/> 実施責任者・分担研究者等の変更・追加 <input type="checkbox"/> 共同研究機関の変更・追加 <input type="checkbox"/> 献血血液使用量の変更 <input type="checkbox"/> プロトコールの変更(変更プロトコールを添付すること) <input type="checkbox"/> 説明同意文書などの変更(文書名： :添付すること) <input type="checkbox"/> 本研究及び本研究と関連する企業団体に係る利益相反の状況に新たな報告すべき事項が発生した。 <input type="checkbox"/> その他(具体的に :)
研究内容の概要(150字以上200字以内)	
添付書類(変更箇所が分かるようにアンダーラインなどを施したものを提出すること):	

定期・終了・中止・中断報告書

平成〇〇年〇〇月〇〇日提出

採血事業者
製造販売業者 御中

研究責任者 氏名
所属
職名
印

研究開発等課題名 (研究開発等期間)	課題： (平成〇〇年〇〇月～平成〇〇年〇〇月)
連絡先	氏名： 所属・職： 電話： e-mail:
研究の種類	<input type="checkbox"/> 疫学研究に関する倫理指針に該当 <input type="checkbox"/> ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に該当 <input type="checkbox"/> その他(具体的に)
事前評価委員会での承認年月日	平成〇〇年〇〇月〇〇日
報告区分	<input type="checkbox"/> 定期報告 <input type="checkbox"/> 期間満了 <input type="checkbox"/> 目標達成 <input type="checkbox"/> その他() 終了・中止・中断の場合、その日時：平成〇〇年〇〇月〇〇日
献血血液の使用状況等	提供された献血血液の種類と量()
	使用した献血血液の種類と量()
	廃棄した献血血液の種類と量、その方法()
	献血血液の保管方法()
	外部の機関へ献血血液を提供した場合、その種類・量とその理由()
研究等の成果	(成果)
	発表論文 <input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無 (有の場合、その内容)

資料7

血液製剤の安全性の向上及び安定供給の確保を図るための基本的な方針(平成二十年厚生労働省告示第三百二十六号)

(傍線の部分は改正部分)

改正案

血液製剤の安全性の向上及び安定供給の確保を図るための基本的な方針

我が国の血液事業は、昭和三十九年の閣議決定を契機として、関係者による多大の努力が積み重ねられてきた結果、輸血用血液製剤については昭和四十九年以降、国内自給が達成されている。しかしながら、血漿、分画製剤に関しては、一部の製剤については、国内自給率は上昇しているものの、その他の製剤についてはいまだ相当量を輸入に依存している状況にある。このような現状を踏まえ、血液製剤(安全な血液製剤の安定供給の確保等)に関する法律(昭和三十一年法律第六十号、以下「法」という。)(第二条第一項に規定する血液製剤をいう。以下同じ。)(の安定的な供給が確保され、かつ、国内自給が推進されるよう一層の取組を進めることが必要である

我が国は、過去において、血液凝固因子製剤によるHIV(ヒト免疫不全ウイルス)感染問題という、深刻な苦難を経験しており、これを教訓として、今後、重大な健康被害が生じないよう、血液製剤の安全性を向上するための施策を進めることが必要である。本方針は、これらの経緯等を踏まえ、法の基本理念である血液製剤の安全性の向上、献血によって得られた血液による国内自給の確保、血液製剤の安定供給、適正使用の推進及び公正かつ透明な血液事業の実施体制の確保を図るため、法第九条第一項に基づき策定する基本的な方針であり、今後の血液事業の方向性を示すものである。血液事業は、本方針、本方針に基づき定める献血推進計画及び供給計画、都道府県が定める都道府県献血推進計画並びに採血事業者

現行

血液製剤の安全性の向上及び安定供給の確保を図るための基本的な方針

我が国の血液事業は、昭和三十九年の閣議決定を契機として、関係者による多大の努力が積み重ねられてきた結果、輸血用血液製剤については昭和四十九年以降、国内自給が達成されている。しかしながら、血漿、分画製剤に関しては、一部の製剤については、国内自給率は上昇している状況にある。このような現状を踏まえ、血液製剤(安全な血液製剤の安定供給の確保等)に関する法律(昭和三十一年法律第六十号、以下「法」という。)(第二条第一項に規定する血液製剤をいう。以下同じ。)(の安定的な供給が確保され、かつ、国内自給が推進されるよう一層の取組を進めることが必要である

我が国は、過去において、血液凝固因子製剤によるHIV(ヒト免疫不全ウイルス)感染問題という、深刻な苦難を経験しており、これを教訓として、今後、重大な健康被害が生じないよう、血液製剤の安全性を向上するための施策を進めることが必要である。本方針は、これらの経緯等を踏まえ、法の基本理念である血液製剤の安全性の向上、献血によって得られた血液による国内自給の確保、血液製剤の安定供給、適正使用の推進及び公正かつ透明な血液事業の実施体制の確保を図るため、法第九条第一項に基づき策定する基本的な方針であり、今後の血液事業の方向性を示すものである。血液事業は、本方針、本方針に基づき定める献血推進計画及び供給計画、都道府県が定める都道府県献血推進計画並びに採血事業者

が定める献血受入計画に基づいて一体的に進められることが必要である。

本方針は、血液事業を取り巻く状況の変化等に対応する必要があること等から、法第九条第三項に基づき、少なくとも五年ごとに再検討を加え、必要があると認めるときは、これを変更するものとする。

第一 血液製剤の安全性の向上及び安定供給の確保に関する基本的な方向

一 基本的な考え方

血液製剤は人体から採取された血液を原料とする有限で貴重なものであることを、まず十分認識することが必要である。国並びに地方公共団体(都道府県及び市町村をいう。以下同じ。)、採血事業者、製造販売業者等(製造販売業者、製造業者及び販売業者をいう。以下同じ。)、医療関係者など血液事業に関わる者は、法に基づき課せられた責務を確実に果たすとともに、法に掲げられた以下の四つの基本理念の実現に向け、各般の取組を進めることが必要である。

1 安全性の向上

血液製剤は医療の領域に多くの成果をもたらしてきており、また、科学技術の進歩により、病原体の発見、その検査法や不活化技術の開発、導入等を通じ、血液製剤を介して感染症等が発生するリスクは著しく低減してきている。しかし、人の血液を原料として製造されていることから、当該リスクを完全に否定できないこと、製造過程における病原体の不活化処理等には限界があることなどの特徴を有する。このため、常に最新の科学的知見に基づき、血液の採取から製造、供給、使用に至るまで、一貫した調査体制を構築するなど、安全性の確保及びその向上に向けた断続的な努力が必要である。

が定める献血受入計画に基づいて一体的に進められることが必要である。

本方針は、血液事業を取り巻く状況の変化等に対応する必要があること等から、法第九条第三項に基づき、少なくとも五年ごとに再検討を加え、必要があると認めるときは、これを変更するものとする。

第一 血液製剤の安全性の向上及び安定供給の確保に関する基本的な方向

一 基本的な考え方

血液製剤は人体から採取された血液を原料とする有限で貴重なものであることを、まず十分認識することが必要である。国並びに地方公共団体(都道府県及び市町村をいう。以下同じ。)、採血事業者、製造販売業者等(製造販売業者、製造業者及び販売業者をいう。以下同じ。)、医療関係者など血液事業に関わる者は、法に基づき課せられた責務を確実に果たすとともに、法に掲げられた以下の四つの基本理念の実現に向け、各般の取組を進めることが必要である。

1 安全性の向上

血液製剤は医療の領域に多くの成果をもたらしてきており、また、科学技術の進歩により、病原体の発見、その検査法や不活化技術の開発、導入等を通じ、血液製剤を介して感染症等が発生するリスクは著しく低減してきている。しかし、人の血液を原料として製造されていることから、当該リスクを完全に否定できないこと、製造過程における病原体の不活化処理等には限界があることなどの特徴を有する。このため、常に最新の科学的知見に基づき、血液の採取から製造、供給、使用に至るまで、一貫した調査体制を構築するなど、安全性の確保及びその向上に向けた断続的な努力が必要である。

これまで、血液製剤については、薬事法昭和三十五年法律第百四十五号に基づき、その安全性の確保を図つてきたところであるが、我が国は、過去において、血液凝固因子製剤によるHIV感染問題という、深甚な苦難を経験しており、より一層の安全確保対策の充実が求められている。国は、平成十四年七月に公布された薬事法及び採血及び供血あつせん業取締法の一部を改正する法律(平成十四年法律第九十六号)を踏まえ、安全性情報の収集、評価等の安全対策が迅速かつ的確に行われ、常にその実効性が検証されるような体制によつて血液製剤を確保していくこととする。

2 国内自給の原則と安定供給の確保
法第三條第二項において血液製剤の国内自給が確保されることを基本とすることが規定されているとおり、倫理性、国際的公平性等の観点に立脚し、国内で使用される血液製剤が、原則として国内で行われる献血により得られた血液を原料として製造され、海外の血液に依存しなくても済む体制を構築すべきである。このため、中期的な需給見通しに基づき、有限で貴重な血液製剤を献血により確保し、医療需要に応じ、過不足なく安定的に供給する必要がある。

特に、血漿、分画製剤については、供給の見通しを踏まえた検討を行った上で、毎年度、需給計画を定めることにより、安定的な供給を確保するものとする。

3 適正使用の推進
医療関係者は、血液製剤が人の血液に由来する有限で貴重なものであること及び原料に由来する感染のリスク等について特段の注意を払う必要があることを十分認識し、患者に真に必要な場合に限り血液製剤を使用する等、適切かつ適正な使用を一層推進する必要がある。これは国内自給及び安定供給の確保の観点からも重要である。

このため、医療機関において、血液製剤の管理体制を整備し、血液製剤の使用状況を正確に把握する等、血液製剤の適正な使用を推進する必要がある。

また、国は、血液製剤の適切かつ適正な使用を推進するため、血液製剤の適正使用や輸血療法の実施等に関する指針を状況の変化に応じて改定し、その普及を図るとともに、医療機関における血液製剤の使用状況について定期的に評価を行う等、適正使用を更に促進するための方策を講ずることとする。

4 公正の確保及び透明性の向上
国、地方公共団体、採血事業者、製造販売業者等、医療関係者など血液製剤に関与する者は、献血者の善意にこたえ、国民の理解と協力を得ることができよう、献血の推進、適正使用の推進等血液製剤に係る施策の策定及び実施に当たり、血液製剤の安全性や供給の状況等につき、十分な情報を公開する必要がある。

また、国、地方公共団体その他の血液製剤に関与する者は、血液製剤の公正かつ透明な運営を確保するものとする。

血液製剤代替医薬品の取扱い
用法、効能及び効果について血液製剤と代替性がある医薬品(以下「血液製剤代替医薬品」という。)についても、その安全性の確保及び向上が必要である。

また、血液製剤代替医薬品は、安定供給を確保するため、計画的に製造及び供給が行われる必要があり、それぞれ患者への必要に応じて、適切かつ適正に使用されることが求められる。

これまで、血液製剤については、薬事法昭和三十五年法律第百四十五号に基づき、その安全性の確保を図つてきたところであるが、我が国は、過去において、血液凝固因子製剤によるHIV感染問題という、深甚な苦難を経験しており、より一層の安全確保対策の充実が求められている。国は、平成十四年七月に公布された薬事法及び採血及び供血あつせん業取締法の一部を改正する法律(平成十四年法律第九十六号)を踏まえ、安全性情報の収集、評価等の安全対策が迅速かつ的確に行われ、常にその実効性が検証されるような体制によつて血液製剤を確保していくこととする。

2 国内自給の原則と安定供給の確保
法第三條第二項において血液製剤の国内自給が確保されることを基本とすることが規定されているとおり、倫理性、国際的公平性等の観点に立脚し、国内で使用される血液製剤が、原則として国内で行われる献血により得られた血液を原料として製造され、海外の血液に依存しなくても済む体制を構築すべきである。このため、中期的な需給見通しに基づき、有限で貴重な血液製剤を献血により確保し、医療需要に応じ、過不足なく安定的に供給する必要がある。

特に、血漿、分画製剤については、供給の見通しを踏まえた検討を行った上で、毎年度、需給計画を定めることにより、安定的な供給を確保するものとする。

3 適正使用の推進
医療関係者は、血液製剤が人の血液に由来する有限で貴重なものであること及び原料に由来する感染のリスク等について特段の注意を払う必要があることを十分認識し、患者に真に必要な場合に限り血液製剤を使用する等、適切かつ適正な使用を一層推進する必要がある。これは国内自給及び安定供給の確保の観点からも重要である。

このため、医療機関において、血液製剤の管理体制を整備し、血液製剤の使用状況を正確に把握する等、血液製剤の適正な使用を推進する必要がある。

また、国は、血液製剤の適切かつ適正な使用を推進するため、血液製剤の適正使用や輸血療法の実施等に関する指針を状況の変化に応じて改定し、その普及を図るとともに、医療機関における血液製剤の使用状況について定期的に評価を行う等、適正使用を更に促進するための方策を講ずることとする。

4 公正の確保及び透明性の向上
国、地方公共団体、採血事業者、製造販売業者等、医療関係者など血液製剤に関与する者は、献血者の善意にこたえ、国民の理解と協力を得ることができよう、献血の推進、適正使用の推進等血液製剤に係る施策の策定及び実施に当たり、血液製剤の安全性や供給の状況等につき、十分な情報を公開する必要がある。

また、国、地方公共団体その他の血液製剤に関与する者は、血液製剤の公正かつ透明な運営を確保するものとする。

血液製剤代替医薬品の取扱い
用法、効能及び効果について血液製剤と代替性がある医薬品(以下「血液製剤代替医薬品」という。)についても、その安全性の確保及び向上が必要である。

また、血液製剤代替医薬品は、安定供給を確保するため、計画的に製造及び供給が行われる必要があり、それぞれ患者への必要に応じて、適切かつ適正に使用されることが求められる。

供されることによつて生命と健康が守られているということとを理解し、積極的な献血に協力すること等を通じ、国民が今後の血液製剤の健全な展開に参画することが期待される。

こうした国民の血液製剤への参加を促すため、血液製剤に関与する者は、国民に対し、血液製剤や血液製剤を用いた医療に関する分かりやすい情報の積極的な提供に努めることが必要である。

1 原料血漿
原料血漿については、毎年度、需給計画において翌年度に確保されるべき原料血漿の量の目標を定めた上で、計画的に原料血漿を確保し、供給している。平成二十三年度及び

平成二十四年度の原料血漿確保目標量は九十五万リットルと定め、原料血漿の確保を行つたことにより、これまでに見合う供給が行われてきている。過去の供給状況等を勘案すると、平成三十年度において百二十万リットル程度までの量が供給可能と予測され、血液製剤代替医薬品の供給状況にもよるが、今後とも、需要に見合う供給が可能であると見込まれる。

2 免疫グロブリン製剤及びアルブミン製剤
免疫グロブリン製剤のうち、免疫グロブリン製剤及びアルブミン製剤の供給量は、製造に要する原料血漿量に換算して、平成二十四年においてそれぞれ〇万リットル及び〇万リットルと見込まれる。これは国内献血に由来するものの供給量は、それぞれ〇万リットル及び〇万リットルと見込まれる。

アルブミン製剤の需要は近年増加傾向となっており、今後の遺伝子組換え製剤の需要を注視する必要があるもの、需要に見合う供給が可能であると見込まれる。また、免疫グロブリン製剤の需要は近年増加傾向にあり、さらに遺伝子組換え製剤の需要を注視する必要があるもの、需要に見合う供給が可能であると見込まれる。

これらの製剤の今後の需要予測は、過去の使用状況等を勘案すると、製造に要する原料血漿量に換算して、平成二十五年においてそれぞれ九十四万リットル及び九十八万リットルと見込まれる。これは国内の製造能力の現在の製造能力約百三十万リットルを越えないものである。

原料血漿の供給量及び血漿、分画製剤の国内製造業者の製造能力等を勘案すると、今後は、遺伝子組換え製剤の開発も重要な課題である。

供されることによつて生命と健康が守られているということとを理解し、積極的な献血に協力すること等を通じ、国民が今後の血液製剤の健全な展開に参画することが期待される。

こうした国民の血液製剤への参加を促すため、血液製剤に関与する者は、国民に対し、血液製剤や血液製剤を用いた医療に関する分かりやすい情報の積極的な提供に努めることが必要である。

1 原料血漿
原料血漿については、毎年度、需給計画において翌年度に確保されるべき原料血漿の量の目標を定めた上で、計画的に原料血漿を確保し、供給している。平成二十三年度及び

平成二十四年度の原料血漿確保目標量は九十三万リットル、平成十九年度は九十七万リットルと定め、原料血漿の確保を行つたことにより、これまでに見合う供給が行われてきている。過去の供給状況等を勘案すると、平成二十五年において百二十万リットル程度までの量が供給可能と予測され、血液製剤代替医薬品の供給状況にもよるが、今後とも、需要に見合う供給が可能であると見込まれる。

2 免疫グロブリン製剤及びアルブミン製剤
免疫グロブリン製剤のうち、免疫グロブリン製剤及びアルブミン製剤の供給量は、製造に要する原料血漿量に換算して、平成十九年においてそれぞれ九十六万リットル及び百五十七万リットルと見込まれる。これは国内献血に由来するものの供給量は、それぞれ九十一万リットル及び九十八万リットルと見込まれる。

原料血漿の供給量及び血漿、分画製剤の国内製造業者の製造能力等を勘案すると、今後は、遺伝子組換え製剤の開発も重要な課題である。

これらの製剤の今後の需要予測は、過去の使用状況等を勘案すると、製造に要する原料血漿量に換算して、平成二十五年においてそれぞれ九十四万リットル及び九十八万リットルと見込まれる。これは国内の製造能力の現在の製造能力約百三十万リットルを越えないものである。

原料血漿の供給量及び血漿、分画製剤の国内製造業者の製造能力等を勘案すると、今後は、遺伝子組換え製剤の開発も重要な課題である。

在庫が不足する場合には供給に支障を及ぼす危険性を回避するよう早急な対策を講ずることが必要である。

さらに、国及び地方公共団体は、予め災害時の対応を検討するとともに、災害時における献血が確保され、血液が適切に供給されるよう所要の措置を講ずるものとする。採血事業者は、あらかじめ災害時における献血受入体制を構築し、各採血所間における需給調整が迅速に行えるよう備えることにより、災害時における献血量の確保に協力する必要がある。

二 献血推進計画及び都道府県献血推進計画
国は、献血により確保すべき血液の目標量、その目標量確保のための基本的な施策、献血の推進に関する事項について、毎年度、厚生労働大臣は、厚生労働大臣に報告することが必要である。厚生労働大臣は、当該報告を受け、安定供給の確保の観点から、需給計画を尊重して適正に製造及び供給が行われるよう、必要に応じた報告等の措置を講ずるものとする。

三 献血受入計画
採血事業者は、本方針及び国の定める献血推進計画に基づき、毎年度、献血受入計画を作成し、国の認可を受けなければならない。事業の実施に当たっては、献血受入体制を構築し、献血の受入れに関する目標を達成するための措置を講ずることが必要である。例えば、採血時の安全性の確保、事故への対応、献血者の個人情報保護、採血による献血者等の健康被害の補償等献血者が安心して献血できる環境の整備、採血に際しての血液検査による健康被害の管理サービスの充実及び献血者登録制度による献血者との連携の確保を図ることが重要である。また、希少血液の確保に引き続き取り組むことが求められる。

四 献血推進施策の進捗状況に関する確認及び評価
国及び地方公共団体は、献血推進施策の進捗状況について確認及び評価を行うとともに、採血事業者による献血の受入れの実績についての情報を収集する体制を構築し、必要に応じ、献血推進施策の見直しを行うことが必要である。

第五 血液製剤の製造及び供給に関する事項
一 基本的な考え方
血液製剤は安定的に供給されなければならないことから、血液製剤の供給に当たっては、緊急時の輸入、国内で製造が困難な血液製剤の輸入等を得ない場合を除き、海外の血液に依存しなくても済むよう、原則として国内の献血に基づく国内供給を推進することが求められる。また、国内の献血に基づく得られた血液が有効に利用され、血液製剤として安定的に供給される必要がある。さらに、一部の製剤で供給に支障が生じるような緊急事態に対応できるよう、製造販売業者等は所要の在庫を保有しておくことが重要である。

このため、保健衛生上の観点から、厚生労働大臣が製造、供給等の需給動向を適時適切に把握する必要がある。法第二十五条に基づき、第二に示した中期の需給の見通しを踏まえ、需給計画を策定し、公表するものとする。なお、輸血用血液製剤については、災害時等の緊急的な対応を常に考慮しつつ、その需給が季節的に変動すること等も踏まえ、献血推進計画等により、安定的な供給を確保する必要がある。

在庫が不足する場合には供給に支障を及ぼす危険性を回避するよう早急な対策を講ずることが必要である。

さらに、国及び地方公共団体は、予め災害時の対応を検討するとともに、災害時における献血が確保され、血液が適切に供給されるよう所要の措置を講ずるものとする。採血事業者は、あらかじめ災害時における献血受入体制を構築し、各採血所間における需給調整が迅速に行えるよう備えることにより、災害時における献血量の確保に協力する必要がある。

二 献血推進計画及び都道府県献血推進計画
国は、献血により確保すべき血液の目標量、その目標量確保のための基本的な施策、献血の推進に関する事項について、毎年度、厚生労働大臣は、厚生労働大臣に報告することが必要である。厚生労働大臣は、当該報告を受け、安定供給の確保の観点から、需給計画を尊重して適正に製造及び供給が行われるよう、必要に応じた報告等の措置を講ずるものとする。

三 献血受入計画
採血事業者は、本方針及び国の定める献血推進計画に基づき、毎年度、献血受入計画を作成し、国の認可を受けなければならない。事業の実施に当たっては、献血受入体制を構築し、献血の受入れに関する目標を達成するための措置を講ずることが必要である。例えば、採血時の安全性の確保、事故への対応、献血者の個人情報保護、採血による献血者等の健康被害の補償等献血者が安心して献血できる環境の整備、採血に際しての血液検査による健康被害の管理サービスの充実及び献血者登録制度による献血者との連携の確保を図ることが重要である。また、希少血液の確保に引き続き取り組むことが求められる。

四 献血推進施策の進捗状況に関する確認及び評価
国及び地方公共団体は、献血推進施策の進捗状況について確認及び評価を行うとともに、採血事業者による献血の受入れの実績についての情報を収集する体制を構築し、必要に応じ、献血推進施策の見直しを行うことが必要である。

第五 血液製剤の製造及び供給に関する事項
一 基本的な考え方
血液製剤は安定的に供給されなければならないことから、血液製剤の供給に当たっては、緊急時の輸入、国内で製造が困難な血液製剤の輸入等を得ない場合を除き、海外の血液に依存しなくても済むよう、原則として国内の献血に基づく国内供給を推進することが求められる。また、国内の献血に基づく得られた血液が有効に利用され、血液製剤として安定的に供給される必要がある。さらに、一部の製剤で供給に支障が生じるような緊急事態に対応できるよう、製造販売業者等は所要の在庫を保有しておくことが重要である。

このため、保健衛生上の観点から、厚生労働大臣が製造、供給等の需給動向を適時適切に把握する必要がある。法第二十五条に基づき、第二に示した中期の需給の見通しを踏まえ、需給計画を策定し、公表するものとする。なお、輸血用血液製剤については、災害時等の緊急的な対応を常に考慮しつつ、その需給が季節的に変動すること等も踏まえ、献血推進計画等により、安定的な供給を確保する必要がある。

二 血液製剤の安定供給の確保のための需給計画
需給計画を策定する際には、当該血液製剤の需給動向のみならず、その製造に使用する原料血漿の量動向、当該製剤に代替する医薬品、治療法等を考慮し、審議会の意見を聴いて策定する。

三 原料血漿の配分
国は、製造販売業者及び製薬業者の製造能力及び製造効率を勘案し、安定供給に必要な血液製剤の適正な水準の生産が確保されるよう、審議会における公正かつ透明な審議を踏まえ、需給計画において採血事業者、製造販売業者及び製薬業者から製造販売業者及び製薬業者への血液の配分量及び配分する際の標準価格を規定するものとする。

四 血液製剤の確保
採血事業者、製造販売業者及び製薬業者は、需給計画を尊重して原料血漿を配分することが必要であり、厚生労働大臣は、計量が尊重されているかを把握するため、原料血漿の配分結果の報告を求めるものとする。

第六 血液製剤の安全性の向上に関する事項
一 安全性の向上のための取組
薬事法に基づき、生物由来製品について、その感染のリスク等を踏まえ、原材料の採取及び製造から市販後に至る各段階において、一般の医薬品等における各種基準に加え、以下に掲げる基準等が定められた。これらを柱として、血液製剤の一層の安全性の確保を図ることとする。

1 原材料採取の方法等について保健衛生上の観点から定める品質等の付加的な基準
2 構造設備、製造管理及び品質管理の方法について、その特性に応じた付加的な基準
3 直接の容器又は直接の被包等において、感染のリスク等を有することから適正に使用すべき医薬品等であることを明らかにするため、安全性の確保に必要十分な付加的な表示を行うこと
4 清原体の混入が判明した場合に速く調査を速やかに講ずることを可能とするため、製造販売業者等及び医療関係者は必

二 血液製剤の安定供給の確保のための需給計画
需給計画を策定する際には、当該血液製剤の需給動向のみならず、その製造に使用する原料血漿の量動向、当該製剤に代替する医薬品、治療法等を考慮し、審議会の意見を聴いて策定する。

三 原料血漿の配分
国は、製造販売業者及び製薬業者の製造能力及び製造効率を勘案し、安定供給に必要な血液製剤の適正な水準の生産が確保されるよう、審議会における公正かつ透明な審議を踏まえ、需給計画において採血事業者、製造販売業者及び製薬業者から製造販売業者及び製薬業者への血液の配分量及び配分する際の標準価格を規定するものとする。

二 血液製剤の安定供給の確保のための需給計画
需給計画を策定する際には、当該血液製剤の需給動向のみならず、その製造に使用する原料血漿の量動向、当該製剤に代替する医薬品、治療法等を考慮し、審議会の意見を聴いて策定する。

三 原料血漿の配分
国は、製造販売業者及び製薬業者の製造能力及び製造効率を勘案し、安定供給に必要な血液製剤の適正な水準の生産が確保されるよう、審議会における公正かつ透明な審議を踏まえ、需給計画において採血事業者、製造販売業者及び製薬業者から製造販売業者及び製薬業者への血液の配分量及び配分する際の標準価格を規定するものとする。

四 血液製剤の確保
採血事業者、製造販売業者及び製薬業者は、需給計画を尊重して原料血漿を配分することが必要であり、厚生労働大臣は、計量が尊重されているかを把握するため、原料血漿の配分結果の報告を求めるものとする。

第六 血液製剤の安全性の向上に関する事項
一 安全性の向上のための取組
薬事法に基づき、生物由来製品について、その感染のリスク等を踏まえ、原材料の採取及び製造から市販後に至る各段階において、一般の医薬品等における各種基準に加え、以下に掲げる基準等が定められた。これらを柱として、血液製剤の一層の安全性の確保を図ることとする。

1 原材料採取の方法等について保健衛生上の観点から定める品質等の付加的な基準
2 構造設備、製造管理及び品質管理の方法について、その特性に応じた付加的な基準
3 直接の容器又は直接の被包等において、感染のリスク等を有することから適正に使用すべき医薬品等であることを明らかにするため、安全性の確保に必要十分な付加的な表示を行うこと
4 清原体の混入が判明した場合に速く調査を速やかに講ずることを可能とするため、製造販売業者等及び医療関係者は必

二 血液製剤の安定供給の確保のための需給計画
需給計画を策定する際には、当該血液製剤の需給動向のみならず、その製造に使用する原料血漿の量動向、当該製剤に代替する医薬品、治療法等を考慮し、審議会の意見を聴いて策定する。

三 原料血漿の配分
国は、製造販売業者及び製薬業者の製造能力及び製造効率を勘案し、安定供給に必要な血液製剤の適正な水準の生産が確保されるよう、審議会における公正かつ透明な審議を踏まえ、需給計画において採血事業者、製造販売業者及び製薬業者から製造販売業者及び製薬業者への血液の配分量及び配分する際の標準価格を規定するものとする。

二 血液製剤の安定供給の確保のための需給計画
需給計画を策定する際には、当該血液製剤の需給動向のみならず、その製造に使用する原料血漿の量動向、当該製剤に代替する医薬品、治療法等を考慮し、審議会の意見を聴いて策定する。

三 原料血漿の配分
国は、製造販売業者及び製薬業者の製造能力及び製造効率を勘案し、安定供給に必要な血液製剤の適正な水準の生産が確保されるよう、審議会における公正かつ透明な審議を踏まえ、需給計画において採血事業者、製造販売業者及び製薬業者から製造販売業者及び製薬業者への血液の配分量及び配分する際の標準価格を規定するものとする。

四 血液製剤の確保
採血事業者、製造販売業者及び製薬業者は、需給計画を尊重して原料血漿を配分することが必要であり、厚生労働大臣は、計量が尊重されているかを把握するため、原料血漿の配分結果の報告を求めるものとする。

第六 血液製剤の安全性の向上に関する事項
一 安全性の向上のための取組
薬事法に基づき、生物由来製品について、その感染のリスク等を踏まえ、原材料の採取及び製造から市販後に至る各段階において、一般の医薬品等における各種基準に加え、以下に掲げる基準等が定められた。これらを柱として、血液製剤の一層の安全性の確保を図ることとする。

1 原材料採取の方法等について保健衛生上の観点から定める品質等の付加的な基準
2 構造設備、製造管理及び品質管理の方法について、その特性に応じた付加的な基準
3 直接の容器又は直接の被包等において、感染のリスク等を有することから適正に使用すべき医薬品等であることを明らかにするため、安全性の確保に必要十分な付加的な表示を行うこと
4 清原体の混入が判明した場合に速く調査を速やかに講ずることを可能とするため、製造販売業者等及び医療関係者は必

二 血液製剤の安定供給の確保のための需給計画
需給計画を策定する際には、当該血液製剤の需給動向のみならず、その製造に使用する原料血漿の量動向、当該製剤に代替する医薬品、治療法等を考慮し、審議会の意見を聴いて策定する。

三 原料血漿の配分
国は、製造販売業者及び製薬業者の製造能力及び製造効率を勘案し、安定供給に必要な血液製剤の適正な水準の生産が確保されるよう、審議会における公正かつ透明な審議を踏まえ、需給計画において採血事業者、製造販売業者及び製薬業者から製造販売業者及び製薬業者への血液の配分量及び配分する際の標準価格を規定するものとする。



Press Release

平成24年9月28日
 医薬食品局血液対策課
 (担当・内線) 課長補佐 笠松(2905)
 血液安全係長 松本(2908)
 (代表電話) 03(5253)1111
 (直通電話) 03(3595)2395

報道関係者 各位

フィブリノゲン製剤納入先医療機関の追加調査について

平成16年12月9日に公表したフィブリノゲン製剤納入先医療機関を対象として、平成19年11月7日付で実施した追加調査の結果について、平成24年9月14日までに回収した医療機関からの回答を取りまとめた状況をお知らせいたします。

(参考) C型肝炎ウイルス検査受診の呼びかけ(下記の厚生労働省ホームページにリンク)
<http://www.mhlw.go.jp/houdou/2008/01/h0117-2/index.html>

1 回答状況

(1)追加調査実施期間 平成19年11月7日～12月5日(※1)
 (ただし、現在も回収中)

(※1) (1)の調査以降も毎年度、元患者の方へのお知らせ状況等について再度調査を行っており、(3)回答施設数以降はそれらの結果を反映したものである。

(2)追加調査対象施設数 医療機関 6,610 施設
 (平成16年公表施設のうち、所在地等が不明であった施設を除いた医療機関)

(3)回答施設数
 ・平成16年公表時に存続していた5,397施設のうち、5,291施設(98%)から回答があった。
 ・なお、このほか平成16年公表時に廃院等していた1,213施設のうち、508施設から回答があった。

四 血液製剤等の研究開発の促進
 血液製剤の安全性の向上を図るため、国は、血液製剤の安全性の向上に係る技術開発の支援等を行い、製造販売業者等は、より安全性の高い血液製剤の開発等に努めることが必要である。

また、血液製剤の安定供給は国内の献血に基づく国内自給等の観点から、原料血漿の供給量、血漿分離製剤の国内製造業者の製造能力等を確保すると、今後とも、遺伝子組換え製剤等の血液製剤代替医薬品の開発は重要な課題である。

いわゆる人工血液等、新たに開発される血液製剤代替医薬品については、血液製剤との比較において優れた安全性及び有効性を有するものの製品化が促進されるよう、研究開発を推進する必要がある。

四 血液製剤等の研究開発の促進
 血液製剤の安全性の向上を図るため、国は、血液製剤の安全性の向上に係る技術開発の支援等を行い、製造販売業者等は、より安全性の高い血液製剤の開発等に努めることが必要である。

また、血液製剤の安定供給は国内の献血に基づく国内自給等の観点から、原料血漿の供給量、血漿分離製剤の国内製造業者の製造能力等を確保すると、今後とも、遺伝子組換え製剤等の血液製剤代替医薬品の開発は重要な課題である。

いわゆる人工血液等、新たに開発される血液製剤代替医薬品については、血液製剤との比較において優れた安全性及び有効性を有するものの製品化が促進されるよう、研究開発を推進する必要がある。

五 血液製剤の原料確保

1 輸血用血液製剤
 輸血用血液製剤の原料確保が高いという指摘があり、海外の輸血用血液製剤の供給も出遅れする、日本の力が押しもたれられは安らもたれられ、輸血用血液製剤に求める血液製業者は、原料の採血から製剤の製造、供給に至るまですべて日本赤十字社が「唯一の事業家」として実施しているため競争原理は働かない、血液製剤の需要は年間を定めたうえで計画として、輸血用血液製剤を供給するまでの全工程を計画がなされることを目指し、コスト削減を図るべきである、コストも安価な製剤を供給すべき、国及び日本赤十字社が努力を要する必要がある。

2 血漿分画製剤
 血漿分画製剤については、製剤は国内で製造されるが、海外の血漿は由来する製剤(以下「輸入製剤」という)により製造されている。主な製剤は以下のとおりである。輸入製剤の供給は国内で確保できず、輸入製剤は国内で製造される。

五 輸血用血液製剤の原料確保
 国は、輸血用血液製剤の原料確保が重要な課題であるとして、海外の血漿は由来する製剤(以下「輸入製剤」という)により製造されている。主な製剤は以下のとおりである。輸入製剤の供給は国内で確保できず、輸入製剤は国内で製造される。

国は、輸血用血液製剤の原料確保が重要な課題であるとして、海外の血漿は由来する製剤(以下「輸入製剤」という)により製造されている。主な製剤は以下のとおりである。輸入製剤の供給は国内で確保できず、輸入製剤は国内で製造される。

2 主な調査結果

(1) 投与の年月について回答があった医療機関数と元患者数

医療機関数	949 施設
元患者数	14,503 人 (投与年別は別表)

(2) 上記以外に、過去に投与の事実をお知らせしたという記録が残されているが、現在では投与の年月は特定できないとする回答があった医療機関数と元患者数

医療機関数	103 施設
元患者数	333 人

(3) (1)と(2)の合計

医療機関数	1,030 施設(※2)
元患者数	14,836 人

(※2)厚生労働省ホームページ「C型肝炎ウイルス検査受診の呼びかけ(フィブリノゲン製剤納入先医療機関名の再公表について)」の公表医療機関等リスト上の該当医療機関の「備考」欄に、「フィブリノゲン製剤を投与されたことが判明した元患者の方がいるとの報告あり。」と記載した。

(4) 元患者の方への投与の事実のお知らせの状況

		元患者数
お知らせした		8,834人 (60%) (※3)
お知らせしていない		6,002人 (40%)
理由	投与後に原疾患等により死亡	1,967人 (13%)
	連絡先が不明又は連絡がつかない	2,891人 (19%)
	肝炎ウイルス検査の結果が陰性	473人 (3%)
	今後お知らせする予定である	236人 (2%)
	その他(未記入含む)	435人 (3%)
合計		14,836人

(※3)元患者の方に一人でも投与の事実をお知らせした医療機関は 853 施設であった。

(5) 診療録等の保管状況

平成6年以前の診療録等が次のいずれかにより保管されている施設数
(括弧内は調査対象施設数に対する割合)

	2,045 施設 (31%) (※4)
(内訳) (※5)	
診療録(カルテ)	1,498 施設 (23%)
手術記録あるいは分娩記録	1,578 施設 (24%)
製剤使用簿	136 施設 (2%)
処方箋	144 施設 (2%)
輸液箋あるいは注射指示箋	276 施設 (4%)
レセプトの写し	83 施設 (1%)
入院サマリーあるいは退院サマリー	296 施設 (4%)
その他の書類	296 施設 (4%)

(※4)平成 16 年の調査では「昭和 63 年6月 30 日以前にフィブリノゲン製剤を投与した記録(診療録、使用簿など)が保管されていますか。」との設問であったのに対し、今回の調査では、「平成6年以前のカルテ等の各種書類が保管されていますか。」との設問であったため、保管していると回答した施設の割合が異なったものと思われる。

(※5)厚生労働省ホームページ「C型肝炎ウイルス検査受診の呼びかけ(フィブリノゲン製剤納入先医療機関名の再公表について)」の公表医療機関等リスト上の「カルテ等の有無」欄に、平成6年以前のカルテ等の記録が一部でも保管されている場合、△印を付していたが、さらに保管されている記録の保管期間、保管状況等を記載した。

(別表)

投与の年月について回答があった元患者数の投与年別の内訳

投与年	人数
昭和 39年	0人
40年	7人
41年	9人
42年	12人
43年	16人
44年	19人
45年	20人
46年	24人
47年	30人
48年	49人
49年	62人
50年	58人
51年	74人
52年	93人
53年	133人
54年	202人
55年	337人
56年	443人
57年	578人
58年	994人
59年	1,537人
60年	1,823人
61年	2,502人
62年	3,042人
63年	1,743人
平成 元年	247人
2年	181人
3年	108人
4年	63人
5年	53人
6年	44人
計	14,503人

平成24年度厚生労働省行政事業レビュー（公開プロセス）について

1. 行政事業レビューとは

- (1) 各府省自ら、予算の支出先等の実態を検証し、これを国民に明らかにした上で、事業内容の点検を行い、その結果を予算の概算要求や執行などに反映させる取組。
- (2) 対象事業は各府省の全事業、このうち、各府省の選択により一部の事業について、事業内容の点検やこれに基づく見直し案について、外部有識者を加えたチームによる評価を公開の場で行う。（公開プロセス）
- (3) 厚生労働省のレビューの実施は、省内の「予算監視・効率化チーム」（リーダー：西村副大臣）が中心となり、外部有識者等7名が参加。

*経緯

- ・行政刷新会議（議長：内閣総理大臣）の指示で平成22年度から実施。
- ・公開プロセスについては、平成23年度は震災等で中止、今回が2回目。

2. 平成24年度の実施状況

(1) 対象事業：「血液製剤対策事業」を含む9事業

*血液製剤対策事業の選定理由

- ・長期的又は継続的に取り組んでいる事業等で執行方法、制度等の改善の余地が大きいもの

(2) 「血液製剤対策事業」の実施状況

- ・実施日：平成24年6月21日
- ・結果：事業の廃止

*主な意見

- ・日赤は血液事業で剰余金が発生しており、補助金として措置すべき事業としては廃止すべき。

なお、今回廃止予定の事業は国庫補助事業としては廃止するが、今後とも日本赤十字社の事業として引き続き実施する予定。

【参考】血液製剤対策事業

- ・血液法の国の責務である血液製剤の国内自給及び安定供給を確保するため、採血事業者である日本赤十字社が実施する献血推進事業（献血者の受入及び血液の安全性向上を図るための取組）へ国庫補助。（昭和46年度～ 補助率1/2）
- ・平成23年度予算額373百万円、補助事業は下記の①～⑦（計371百万円）、⑧は本省経費
 - ①献血者健康増進事業 ②若年層献血者等確保推進事業
 - ③複数回献血協力者確保事業 ④献血受入確保施設設備整備事業
 - ⑤血液の安全性確保のための情報システム事業
 - ⑥問診技術向上研修事業 ⑦ウエストナイルウイルス検査体制整備事業
 - ⑧献血者健康被害補償対策推進事業

平成25年度血液対策予算要求の概要

基本方針

行政事業レビュー公開プロセスにおいて、「廃止」とされた「血液製剤対策事業」(日赤向け補助金)について、公開プロセスにおける議論並びに血液製剤の安全性の向上及び安定供給の確保などの血液法における国の責務を踏まえ、真に必要な事業を要求。

《平成24年度予算 422》

(単位:百万円)

血液製剤対策費 346

【日赤への補助事業】332

【国直轄事業】14

- (1) 献血者健康被害補償対策推進費 《安定供給の確保》
- (2) 特殊製剤国内自給向上対策費 《国内自給の確保》

日赤向け補助事業全廃止

(血液製剤対策費廃止)

(廃止額:332)

血液製剤対策推進費【国直轄事業】 76

- (1) NATコントロールサーベイ事業費 《安全性の向上》
- (2) 献血構造改革推進費 《安定供給の確保》
- (3) 特殊血液調査費 《安定供給の確保》
- (4) 血漿分画製剤製造・供給体制等対策費 《国内自給の確保》
- (5) 血液製剤使用実態調査等事業費 《適正使用の推進》
- (6) フィブリノゲン製剤納入医療機関訪問調査費 《適正使用の推進》
- (7) 血液対策等推進費 《安全性の向上・安定供給の確保》

血液安全・安定供給等推進費【国直轄事業】 325

国の責務を果たす事業として推進

- (1) 安全性向上対策費 《安全性の向上》
 - 感染症安全対策体制整備費(新規)
- (2) 安定供給確保対策費 《安定供給の確保》
 - 高校献血教育推進事業費(新規)
 - 若年層対策推進モデル事業費(新規)
- (3) 国内自給確保等対策費 《国内自給の確保》
 - 血液製剤インフォームドコンセント環境整備事業費(新規)
- (4) 適正使用推進対策費 《適正使用の推進》
- (5) 血液対策等推進費 《安全性の向上・安定供給の確保》

国直轄事業を一元化

資料2

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)

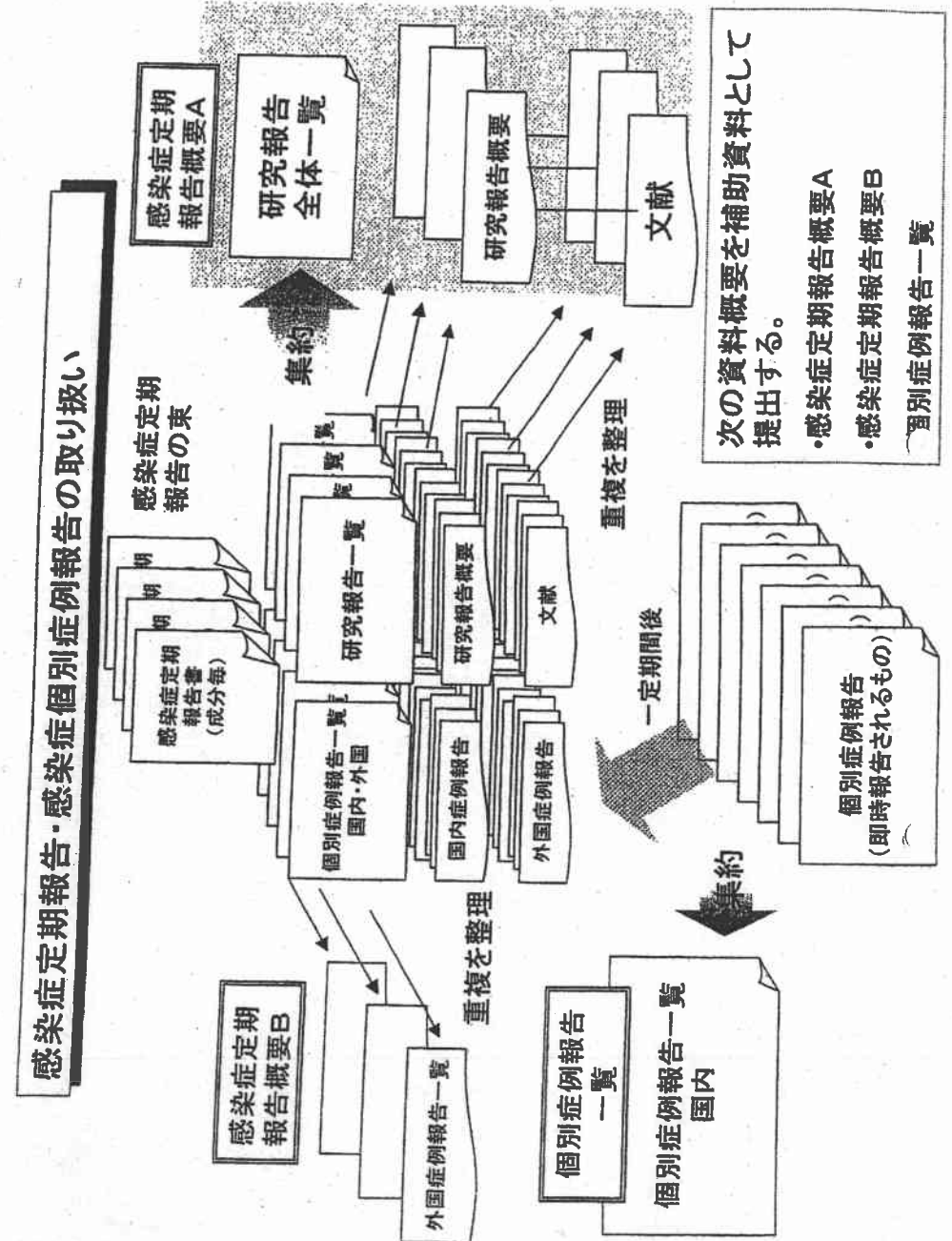
1 基本的な方針

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。



次の資料概要を補助資料として提出する。
・感染症定期報告概要A
・感染症定期報告概要B
・個別症例報告一覧

感染症定期報告概要

(平成24年9月28日)

平成24年4月1日～7月31日受理分

- 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

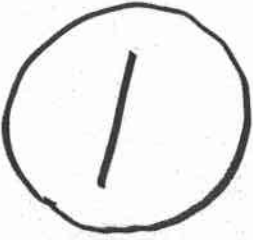
- 1 平成24年4月1日～7月31日までに報告された感染症定期報告に含まれる研究報告（論文等）について、重複している分を除いた報告概要一覧表を作成した。
- 2 一覧表においては、前回の運営委員会において報告したものの以降の研究報告について、一覧表の後に当該感染症の主要研究報告の内容を添付した。

感染症定期報告の報告状況(2012/4/1~2012/7/31)

血対標 ID	受理日	番号	感染症 (PT)	出典	概要	新出文献番号
120011	29-May-12	120182	B型肝炎	Vaccine, 30(2012)221-2-2219	B型肝炎ウイルス(HBV)感染の世界的疫学に関する報告。HBV感染の疫学的調査を行うために関連する研究論文を体系的に再評価し、世界的なHBs抗原陽性率のデータを27年分(1980年~2007年)収集した。また、1990年と2005年における年齢別有病率及び流行性について推定した。その結果、1990年から2005年で多くの地域で慢性B型肝炎の有病率は減少していたが、HBs抗原陽性者の絶対数は増加した。年齢別のある率はサハラ以南が最も高く、地理的地域によって変化した。アジア地域では、東アジアのHBs抗原陽性率は最高8.6%と高レベルであるが、南アジアでは低かった。北アメリカやヨーロッパでの有病率の減少は、B型肝炎ワクチンの普及や血液製剤検査の改善などが関連している。また、疾病負荷の大きい東南アジアや東アジアの地域でも、幼児へのB型肝炎ワクチン接種が広まった事に伴い有病率が減少している。	1
120011	01-Jun-12	120185	B型肝炎、C型肝炎、HIV	J Infect Dis, 205(2012)875-885	米国の供血者におけるヒト免疫不全ウイルス(HIV)、C型肝炎ウイルス(HCV)とB型肝炎ウイルス(HBV)の感染時期による遺伝型多様性に関する報告。HIV、HCV、HBVの遺伝的変化を観察するため、3,400万人の米国の供血者情報(2006~2009年)から感染者を特定し、最近感染した(incident)供血者とそれより以前に感染した(prevalent)供血者との間でウイルスゲノムを比較した。その結果、321例のHIV株(50%がincident)のうち、2.5%はサブタイプが非B型であった。プロテアーゼ阻害剤耐性変異は2%、逆転写酵素阻害剤耐性変異は11%の感染供血者に見られた。また、278例のHCV株(31%がincident)において、incident症例ではサブタイプ3aが高頻度で発見されたのに対し、prevalent症例では1bが多かった。193例のHBV株(26%がincident)サブタイプは、incident症例でA2、prevalent症例ではA1、B2、B4がより高い頻度で見られた。また、HBVのエスケープ変異はprevalent症例で高頻度で見られた。このような供血者のウイルスゲノムタイプの変異分布は、米国の高リスク集団のジェノタイプ分布と類似していた。	2
120016	30-Apr-12	120060	バルボウイルス	Transfusion; published online, Feb 17, 2012-1	バルボウイルスB19(B19V)遺伝子型3の不活化に関する報告。北米・欧州では稀で他の遺伝子型と比較してデータが少ないB19V遺伝子型3の不活化について研究するために、人血清アルブミンの低温殺菌と低pHインキュベーションによるB19Vの不活化効率を細胞培養系への感染力の形で評価し、遺伝子型1、3と比較した。また、ウイルス中和試験を人免疫グロブリン製剤を用いて行った。その結果、アルブミンの低温殺菌と低pHインキュベーションは遺伝子型1、3のB19Vに対し同程度の不活化活性を示した。また、北米及び欧州由来のグロブリン製剤によって両遺伝子型のウイルスは速やかに中和された。これらの結果より、低温殺菌と低pHインキュベーションは遺伝子型3のB19Vに対しても不活化活性を持ち、また、人免疫グロブリン製剤が両遺伝子型に起因するB19V感染の治療に対して有効であることが示唆された。	3
120016	01-May-12	120061	チクングニヤウイルス感染	Transfusion; published online, Feb 17, 2012-2	血漿分画製剤製造工程におけるチクングニヤウイルス(CHIKV)の不活化に関する報告。血漿分画製剤のウイルス不活化工程のCHIKVに対する影響を検討するために、低温殺菌、蒸気加熱、S/D処理及びpHインキュベーション法によるCHIKV及び類似ウイルスであるシンドビスウイルス(SINV)の不活化効率を調査した。その結果、処理後のウイルス力価からは評価した工程にCHIKV及びSINVに効果的な不活化効果があることが示された。これはモデルウイルスが用いられた初期のバリデーション研究の結果を裏付けた。	4
120020	05-Jun-12	120189	チクングニヤウイルス感染	Emerging Infectious Diseases, 18(2012)493-495	中国におけるチクングニヤ熱アウトブレイクの報告。2010年10月、中国広東省の2つの隣接した村でチクングニヤ熱アウトブレイクが発生し、173例の患者が報告された。最初の患者は9月1日に発症し、9月19日以降、患者数が急増した。死亡した患者はおらず、大部分の患者は1週間以内に回復した。12人の急性期患者及び3人の回復期患者から血清検体を採取し、このアウトブレイクを引き起こしているチクングニヤウイルスの系統発生解析を行ったところ、このチクングニヤウイルスは東/中央/南アフリカ(ECSA)サブグループのインド洋分枝群に属することが示された。前月、広東省の天気は雨が多く、これにより媒介蚊の個体数が増加したと考えられる。	5
120020	03-Jul-12	120234	ウイルス感染、クロストリジウム感染	CDC/Press Release, Mar 14, 2012	米国における、胃腸炎による死亡例の増加の報告。米国疾病管理予防センター(CDC)は、胃腸炎により死亡した人数が1999年から2007年で2倍以上に増加したと発表した。65歳以上が83%を占めていた。Clostridium difficileとノロウイルスが最も多い感染原因であった。特にC. difficileは8年間で約5倍に増加し、死亡例の3分の2を占めており、これには高毒性株及び耐性株の出現と拡大が影響しているものと考えられた。ノロウイルスは新型株流行の有無によって死亡例数が増減するが、米国における胃腸炎流行の主要原因である。	6

120020	18-Apr-12	120044	バベシア症	Ann Intern Med, 155(2011)509-519	米国における輸血関連バベシア症に関する報告。1979年~2009年に米国で輸血を受けて2010年までにバベシア症と診断された患者を調査した。その結果、輸血関連バベシア症例は162例が特定され、B. microti感染が159例、B. duncani感染が3例であった。B. microti感染例ではほとんどの症例が赤血球製剤に関連した感染であったが、4例は全血由来血小板製剤に関連していた。87%が風土病とされる7州(マサチューセッツ、ニューヨーク、コネチカット、ミネソタ、ロードアイランド、ニュージャージー、ウィスコンシン)で発生していた。B. duncani感染例においては3例とも赤血球輸血関連で、ワシントン州で1例、カリフォルニア州で2例記録されていた。以上の結果から、輸血関連バベシア症感染のリスク軽減のため、ドナー検査の必要性が示唆された。	7
120020	04-May-12	120093	バベシア症	Pediatrics, 128(2011)e1019-e1024	早産新生児における輸血関連バベシア症に関する報告。米国北東部において、バベシアに感染していた2つの血液製剤の輸血により7例のバベシア症例が発生した。臨床症状はこの集団において大ききばらつきがあった。超低出生体重児(760g)は最も重症であった。抗生物質での治療は軽度及び無症候性の感染症に効果があったが、最も重症であった2症例は長期の多剤処置を伴う2倍量の交換輸血が必要であった。Babesia microti感染症のリスクは現在の血液銀行の業務手順では排除されない。流行地域の新生児科の医師は早産児における輸血関連バベシア症を考慮するべきである。	8
120051	05-May-12	120094	バベシア症	Transfusion; published online, Dec 13, 2011	米国におけるバベシア症の輸血感染の報告。カルフォルニア在住の59歳の慢性赤血球症(HbSS)患者で、Babesia duncani(B. duncani)の感染症例が報告された。唯一のリスク因子は赤血球輸血を受けたことであった。患者は数カ月間にわたり輸血量が増加した後、2008年9月に血液スメアにより赤血球内原虫が発見され、診断された。B. microti陰性、B. duncani陽性であり、原虫18SリボソームRNAが血液検体から増幅された。輸血血液の調査の結果、カリフォルニア在住67歳の関連供血者が陽性であり、スナズミに血液検体を接種したところB. duncaniが分離された。当該患者は2008年5月に輸血感染を受けたから4カ月以上を経て診断された。本症例はB. duncaniに起因する輸血関連症例の3例目であり、B. microtiの検査では検出不可能なバベシアが疾病原因となり得ることを強調している。	9
120051	19-Apr-12	120045	マラリア	Transfusion, 51(2011)2398-2410	メキシコへの渡航者におけるマラリア感染リスクに関する報告。メキシコ渡航者における供血延期条件の妥当性を検討するため、2006年に米国血液センター6施設においてメキシコ渡航のために供血延期となった885例を対象にドナーの感染リスクを現地住民のマラリア感染率を用いて算出した。その結果、メキシコでのマラリア感染率は75%がChiapas州及びOaxaca州において発生していたが、72%のドナーがQuintana Roo州を旅行しており、それらのドナーの感染リスクは0.0080例/年又は125年に1例であった。また、リスクの高いOaxaca州を除いた全ての地域の供血延期を解除すると、年間65000人の供血者を取り戻し、マラリア感染リスクは20年に1例となる。このことから、Quintana Roo州のようなリスクが低いと判断される地域に関しては供血延期条件を緩和するべきと考えられた。	10
120051	07-May-12	120096	マラリア	ECDC News, Oct 28, 2011	ギリシャにおける三日熱マラリア感染がギリシャで報告された。このうち33例は流行圏への旅行歴がないギリシャ市民で、27症例が南ギリシャのLakonia県Evrotasから報告された。加えて、季節労働者の28症例もEvrotasから報告され、これらの移民の大部分(21例)はマラリア流行圏の出身者であった。発症ピークは9月5~18日の週であり、それ以降報告数は減少した。全症例が三日熱マラリアと確認され、基礎疾患を持つ70歳代男性の1死亡例を除き、全員軽症であった。	11
120051	14-Jun-12	120198	トリパノソーマ症	Eurosurveillance, Mar 8, 2012	ケニアへのドイツ人旅行者におけるヒアフリカトリパノソーマ症(HAT)の報告。2012年1月、ケニアのマサイマラ地区から帰国したドイツ人旅行者においてCHATが確認された。患者は62歳男性で、マサイマラ国立保護区を訪れ、大半の時間を半輪半ズボンで過ごし、昆虫忌避剤を使用していた。帰国後に発熱により入院し、ギムザ染色でTrypanosoma brucei rhodesienseが確認された。スラミンによる治療が行われ、回復した。1カ月後に、マサイマラ地区からの輸入HAT症例が他にも1例報告された。	12
120063	10-May-12	120089	その他	Transfusion, 51(2011)2367-2376	第2世代S-303病原体不活化処理後の保存赤血球(RBC)の生存率に関する報告。S-303はfrangible anchor-linker-effector (FRALE)複合体であり、アルキル化により強力に病原体を減少させる。第2世代S-303プロセス処理後のRBC生存能力を調査するために、27人の健康人より得られたRBCをS-303不活化群またはコントロール群に分けて処理し、35日間保存した後に精製RBCを接種者に戻して生存能力を評価した。その結果、S-303処理RBCの輸血24時間後回収率はコントロールと同等であった。生存率、T50生存率の中央値はコントロールよりもそれぞれ13.7日、6.8日短かったが、RBC生存曲線下面積の差は1.38%にとどまった。また、臨床的に意味のある検査値の異常は認められなかった。S-303処理されたRBCは生理学的にも代謝的にも輸血に適していることが示唆された。	13

識別番号・報告回数	報告日	第一報入手日 2012. 3. 19	新医薬品等の区分 該当なし	総合機構処理欄
一般的名称	解凍人赤血球濃厚液		公表国 WHO	
販売名(企業名)	解凍赤血球濃厚液「日赤」(日本赤十字社) 照射解凍赤血球濃厚液「日赤」(日本赤十字社) 解凍赤血球-LR「日赤」(日本赤十字社) 照射解凍赤血球-LR「日赤」(日本赤十字社)	研究報告の公表状況 Ott JJ, Stevens GA, Groeger J, Wiersma ST. Vaccine. 2012 Mar 9;30(12):2212-9. Epub 2012 Jan 24.		
研究報告の概要	<p>○B型肝炎ウイルス感染の世界的疫学: 年齢別HBs抗原陽性率と流行性の推定 目的: 慢性B型肝炎は最も深刻な感染症のひとつであり、肝硬変や肝臓がんから死亡にいたる主要なリスク因子である。慢性HBV感染症患者の年齢、性別及び地域別有病率を推定し、慢性的な感染者の絶対数を計算することを目的として研究を行った。 方法: HBV感染症を報告している研究論文を体系的に再評価した。そして世界的なHBs抗原陽性率のデータを27年間分(1980年-2007年)収集した。観察データに基づき、経緯ベイズ階層モデルを用いて1990年と2005年における世界的レベル及び全世界地域の年齢別有病率及び流行性について推定した。 結果: 1990年から2005年に、多くの地域で慢性HBV感染症の有病率は減少し、これは特に中央サハラ以南のアフリカ、熱帯、中央アジア、南アジア、東南アジア、中央ヨーロッパで明白であった。しかしながらHBs抗原陽性者の絶対数は1990年の2億2千3百万人から2005年の2億4千万人に増加した。年齢別の有病率はサハラ以南が最も高く、熱帯及び中央アジア、北アメリカ、西ヨーロッパのよう地域における有病率は2%以下と、地理的地域によって変化した。アジア地域では、東アジアのHBs抗原陽性率は最高8.6%と高いレベルであるが、南アジアでは中央値よりも低いという異なるパターンを示した。東南アジアの子供たちには有病率の顕著な減少が認められた。 北アメリカやヨーロッパでの有病率の減少は、B型肝炎ワクチンの普及や血液製剤検査の改善などが関連している。また、疾病負荷の大きい東南アジアや東アジアの地域でも、幼児へのB型肝炎ワクチン接種の範囲が劇的に広まった事に伴って有病率が減少した。 結論: HBV感染陽性率の減少は、予防接種の普及に関連がある可能性がある。慢性HBV感染症患者の絶対数の増加及び全世界のHBV流行の差異は、HBV関連死亡率及び有病率に対するターゲットアプローチが必要であることを示している。HBV感染データは、疾病負荷の推定や健康対策及びワクチン接種の政策を立てるために、国家や準国家レベルで必要とされている。</p> <p>報告企業の意見 1990年及び2005年における慢性HBV感染症患者の年齢、性別及び地域別有病率を推定し全世界での絶対数を算出したところ、多くの地域で有病率は減少したが地域によって大きな差があり、全世界での絶対数は増加したとの報告である。なお、現在日本では、多くの国で行われている全小児へのユニバーサルワクチン接種は行われていない。今後、日本へのHBV感染予防対策を再検討する必要があるかも知れない。</p>			
			今後の対応 HBV感染に関する新たな知見等について、今後も情報収集に努める。	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、vCID等の伝播のリスク



MedDRA/J Ver.15.0J

Vaccine 30 (2012) 2212–2219



Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Vaccine

Journal homepage: www.elsevier.com/locate/vaccine



Global epidemiology of hepatitis B virus infection: New estimates of age-specific HBsAg seroprevalence and endemicity

J.J. Ott^a, G.A. Stevens^a, J. Groeger^b, S.T. Wiersma^{a,*}

^a World Health Organization, 20, Avenue Appia, 1211 Geneva 27, Switzerland
^b Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, USA

ARTICLE INFO

Article history:
 Received 1 September 2011
 Received in revised form 9 December 2011
 Accepted 23 December 2011
 Available online 24 January 2012

Keywords:
 Hepatitis B
 Hepatitis B surface antigen (HBsAg)
 Epidemiology
 Prevalence
 Systematic review
 Age distribution
 Seroprevalence studies
 Modeling

ABSTRACT

Objective: Chronic hepatitis B virus infection is one of the most serious infections and a major risk factor for deaths from cirrhosis and liver cancer. We estimate age-, sex- and region-specific prevalence of chronic HBV infection and calculate the absolute number of persons being chronically infected.

Methods: A systematic review of the literature for studies reporting HBV infection was conducted and worldwide HBsAg seroprevalence data was collected over a 27-year period (1980–2007). Based on observed data, age-specific prevalence and endemicity were estimated on a global level and for all world regions for 1990 and 2005 using an empirical Bayesian hierarchical model.

Findings: From 1990 to 2005, the prevalence of chronic HBV infection decreased in most regions. This was particularly evident in Central sub-Saharan Africa, Tropical and Central Latin America, South East Asia and Central Europe. Despite this decrease in prevalence, the absolute number of HBsAg positive persons increased from 223 million in 1990 to 240 million in 2005. Age-specific prevalence varied by geographical region with highest endemicity levels in sub-Saharan Africa and prevalence below 2% in regions such as Tropical and Central Latin America, North America and Western Europe. Asian regions showed distinct prevalence patterns with lower intermediate prevalence in South Asia, but up to 8.6% HBsAg prevalence in East Asia. Strong declines were seen in South East Asian children.

Conclusion: Declines in HBV infection prevalence may be related to expanded immunization. The increasing overall number of individuals being chronically infected with HBV, and the widespread global differences in HBV prevalence call for targeted approaches to tackle HBV-related mortality and morbidity. HBV infection prevalence data are needed at country and sub-national level to estimate disease burden and guide health and vaccine policy.

© 2012 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Knowledge of region- and age-specific prevalence of hepatitis B infection is important for evaluating vaccination programs and national disease prevention and control efforts. Furthermore, any modeling and assessment of the disease burden associated with the hepatitis B virus (HBV) requires prevalence estimates. So far, global studies on HBV seroprevalence are limited and comprehensive data are not available for many countries. In addition, demographic changes and expanded vaccination can create new epidemiological patterns of the virus which impact on region-specific endemicity levels.

HBV is spread predominantly by percutaneous or mucosal exposure to infected blood and other body fluids with numerous forms

of human transmission. The sequelae of HBV infection include acute and chronic infection, cirrhosis of the liver and primary liver cancer. The likelihood of progression to chronic infection is inversely related to age at the time of infection. Around 90% of infants infected perinatally become chronic carriers, unless vaccinated at birth. The risk for chronic HBV infection decreases to 30% of children infected between ages 1 and 4 years and to less than 5% of persons infected as adults [1,2].

Chronic HBV infection progresses nonlinearly through 3–4 phases, from the immune-tolerant phase to immune clearance or immunoinactive phase, to nonreplicative inactive phase and possible reactivation [3,4]. After infection with HBV, most patients either develop immunity (87–90%) and clear the infection or become chronic carriers. A lower percentage will develop liver disease or chronic active hepatitis with an increased risk of developing cirrhosis, liver cancer or both [5]. The fatality of these diseases as well as their attribution to hepatitis infection is well known: 600,000 HBV-related deaths were estimated to occur annually [6] and 73%

* Corresponding author. Tel.: +41 22 791 1511.
 E-mail address: wiersmas@who.int (S.T. Wiersma).

of all liver cancer deaths worldwide are due to hepatitis viruses, with much higher proportions in low and middle income countries [7].

The complex serology and natural history associated with HBV infection creates challenges for the assessment of HBV prevalence and the provision of comparable global estimates. This is due to the availability of multiple laboratory markers for hepatitis B infection. Antibodies and antigens associated with this infection include hepatitis B surface antigen (HBsAg), antibody to hepatitis surface antigen (anti-HBs), antibody to hepatitis B core antigen (anti-HBc), and IgM antibody subclass of anti-HBc (IgM anti-HBc). Some studies also report markers of high HBV replication such as hepatitis B "e" antigen (HBeAg), antibody to HBeAg (anti-HBe), and quantitative HBV-DNA.

HBsAg is the main clinical marker indicating acute or chronic infection and prevalence as well as endemicity of HBV infection is defined by the presence of HBsAg [8]. HBsAg testing is the primary way to identify persons with chronic HBV infection and several characteristics of this serological marker increase the precision of HBsAg estimates, including high specificity, long serum persistence, low possibility of chronic cases losing HBsAg [3,8,9]. However, routine population surveillance of chronic viral hepatitis is currently rare. Standardized monitoring would help not only in quantifying the disease burden on a population level but also in determining the characteristics of infected individuals, avoiding further transmission and allocating appropriate treatment. This is particularly important for populous countries that have been previously categorized as highly endemic for chronic hepatitis B infection such as China, Indonesia, Nigeria and parts of Africa and Asia, where an immense absolute number of people live with the virus [6,8]. However, up to date region-specific and globally comparable chronic HBV prevalence data are lacking and no relevant meta-analysis has been published on this topic. In addition, the absolute number of individuals being chronically infected with HBV is not known.

In the light of this gap, the objective of our study is to estimate age- and region specific HBsAg prevalence in 1990 and 2005 by conducting a systematic review and modeling HBsAg prevalence. This investigation is part of the Global Burden of Diseases, Injuries, and Risk Factors Study, which carries out complete systematic assessments of global data on disease and risk factors in order to produce comparable estimates for two time periods, 1990 and 2005.

We provide detailed HBsAg prevalence estimates that are categorized by the 21 regions as defined by the Global Burden of Disease Study and geographically mapped by endemicity level. The Global Burden of Disease regions are based on geographic regions or continents and are grouped based on child and adult mortality levels and major causes of death in each country (see Section 2).

2. Methods

2.1. Systematic review

A systematic review of published literature and data was conducted to identify articles reporting prevalence of hepatitis B, C, and D virus infection for all countries over a 27-year period, from 1980 to 2007. Articles published in this time frame were included regardless of when the data were collected. Within each database, medical subject heading terms and freetext search terms were included to identify article abstracts that contained (1) a term related to the hepatitis B, C or D virus or their markers of hepatitis infection and (2) a term related to either prevalence, incidence, or disease burden (search terms available by request from the author). Results were restricted to original research articles in English. Abstracts were screened and were required to report hepatitis B or C prevalence

or incidence. Where abstracts were incomplete or missing, the full-text article was retrieved and reviewed manually to determine if it reported prevalence of hepatitis B or C virus infection. A total of 6064 English citations were found (3273 Medline, 2283 Embase, 508 Cinhal). Review articles, outbreak investigations and national infections disease notification reports were excluded since they provide information on incident or acute cases. Data reported in the article had to be reasonably representative of the general population rather than conducted among a special high-risk group (i.e. injecting drug users, HIV-positive individuals) or a population that was selected based on a risk factor for viral hepatitis or a condition associated with hepatitis infection (Fig. 1, exclusion criteria).

After applying manual de-duplication and the exclusion criteria on the abstract, 1233 articles were obtained (references are listed in Web Annex 1). These were further screened for the specified exclusion criteria and for HBsAg as the marker of interest in the full text before country-specific prevalence information was extracted. For one country, the United States (US), a representative primary national data source was available and data were included only from articles reporting prevalence from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) [10,11].¹

Articles only reporting HCV marker (222) and those reporting summary or other markers of HBV (82) were excluded; 396 articles were determined to meet all eligibility criteria.

2.2. Analysis and modeling of data

Age-, sex- and country-specific HBsAg seroprevalence data were extracted. Additional information obtained was: primary author, year of publication, number of individuals tested for HBsAg, laboratory test/method, and study year. If the year was missing, two years prior to publication was assumed as the study year. In case age was not further specified, it was imputed based on contextual information such that pregnant women and those giving birth were assumed to be 15–49 years, army recruits and soldiers between 18 and 45 years, blood and organ donors between 17 and 65 years, and school children between 5 and 15 years. Extracted data were grouped according to 21 Global Burden of Disease Regions (Web Annex 2) and assigned a quality rating based on population size, sampling and representativeness of the general population. Using the extracted study seroprevalence data, prevalence of HBsAg was modeled using Dismod III v3.0, a generic disease modeling system [12]. DisMod III aims to synthesize data to generate estimates of the disease burden associated with more than 200 diseases and over 20 major risk factors for the Global Burden of Disease 2010 study [13]. DisMod III models multiple disease parameters, including incidence, prevalence, remission, and mortality, in order to ensure consistency among the parameters. Data on each of these parameters are synthesized using a hierarchical empirical Bayesian model to make estimates for 21 world regions based on observed data in each modeled region, data observed in other regions, and data from other time periods (by estimating a time trend). Briefly, DisMod III first fits an empirical prior estimate separately for each disease parameter (e.g., prevalence and incidence). The empirical prior has the following elements: geographic hierarchy, in which estimates for each region are informed by data from the same region and (to a lesser extent) data from other regions; a flexible age pattern; a linear time trend; and an offset for data on males. Second, for each time period (1980–1996 and 1997–present), sex, and region (of 21 world regions), DisMod fits a Bayesian model using all data in that

¹ The definition of chronic HBV infection and the respective marker used slightly varied by period of survey conduction. From 1988 on, HBV infection was defined as the presence of anti-HBc and HBsAg. We have included this estimate since all HBsAg positive individuals should be expected to have anti-HBc.

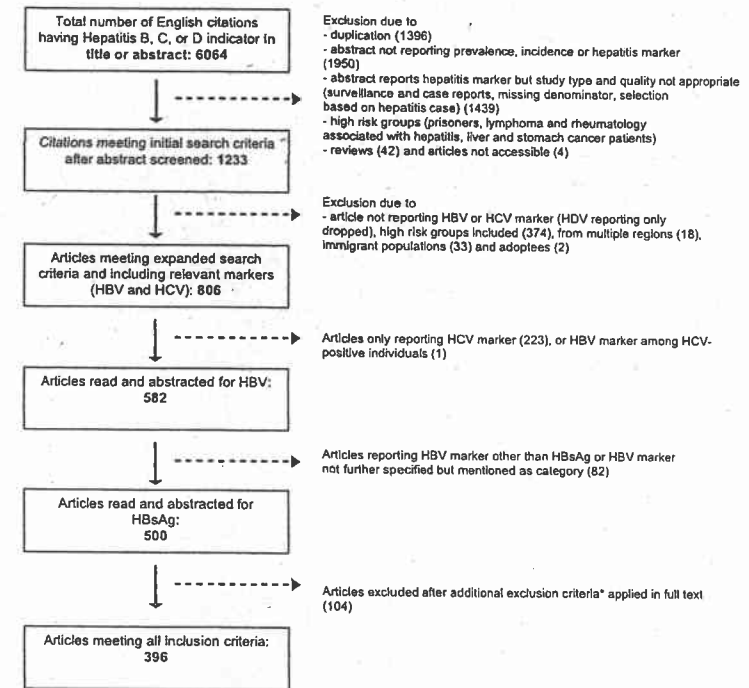


Fig. 1. Flowchart of article screening.

*Additional exclusion criteria applied in full text screening and not identified as such during first article review.

- Populations of persons at high risk for hepatitis including those with diseases related to HBV such as acute (viral) hepatitis cases, liver cancer, and cirrhosis; HIV-positives.
- Other high risk study populations and highly defined populations such as prisoners, HIV/STD clinic attendees indicating recently acquired sexually transmitted disease, sex workers, multi-transfused patients, drug addicted individuals and injecting drug users, liver transplant recipients, refugees, homeless people.
- Reports of acute diseases surveillance (reporting incident cases, acute cases or rates per 100,000 population).
- Reports and data that are incomplete (e.g. number tested not provided or below 20).
- Citations reporting HBsAg prevalence in the US other than NHANES prevalence.

time–sex–region group and empirical priors for all epidemiological parameters, generating posterior estimates of incidence, prevalence, remission, and mortality that are internally consistent. In our model, the empirical priors for incidence, remission, and mortality were uninformative; thus the posterior was informed only by prevalence data. Like the empirical prior, the posterior models also incorporate linear time trends, flexible age patterns, and offsets for data on males. Applying region-specific population figures for 1990 and 2005, age- and region-specific HBsAg prevalence was used to calculate the absolute number of individuals chronically infected with HBV.

For the purpose of generating endemicity maps, endemicity levels of HBsAg were defined as low (<2%), lower intermediate (2–4%), higher intermediate (5–7%) and high (≥8%). HBsAg infection levels have traditionally been described according to three categories of endemicity indicating the proportion of the population being seropositive for HBsAg [8,14]. However, given that there are regions very close to low endemicity (<2%) (e.g. 2.0% prevalence among children in Western Europe and Central Latin America in 2005) and others rather close to high endemicity (≥8%) (e.g. 7.8% prevalence

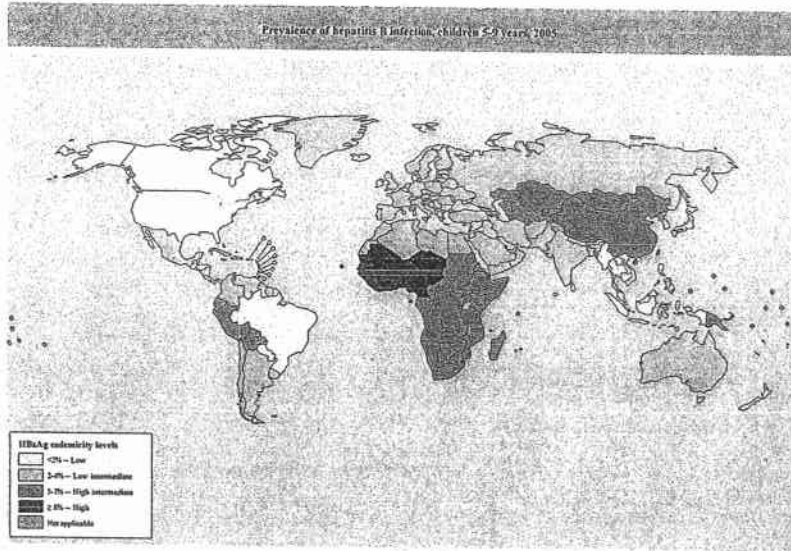
among adults in Eastern Asia in 2005) the split of the intermediate category better reflects regional differences and their implications.

3. Results

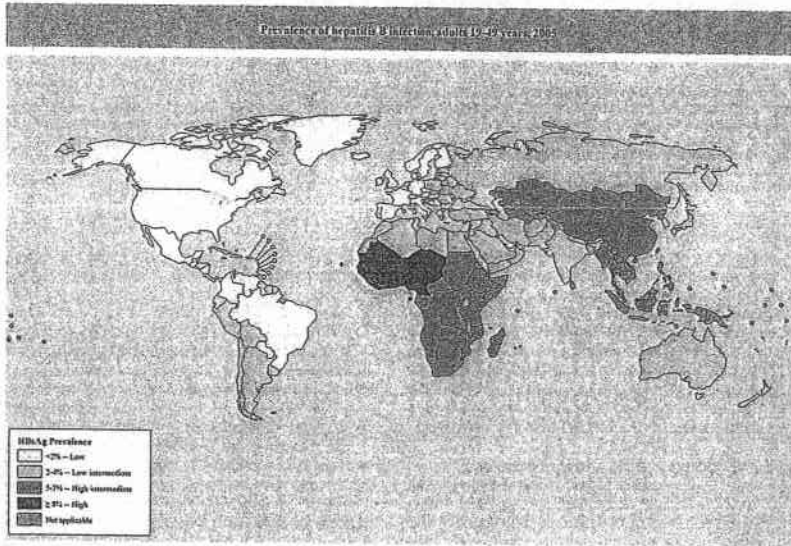
We identified 396 studies of HBsAg prevalence after applying all inclusion and exclusion criteria. To illustrate global endemicity, estimated and categorized HBsAg prevalence in 2005 is shown in Map 1 for children (5–9 years) and in Map 2 for adults (19–49 years) applying world population age weights.

The pattern of age-specific HBsAg prevalence varied greatly by region and the trend of a decreasing prevalence with age was more evident in 1990 as compared to 2005, where some regions, e.g. South East Asia showed an exceptional increase with age. For most regions, predominantly Tropical Latin America, West sub-Saharan Africa, Australasia, and North Africa, Figs. 2–5 indicate an overall decrease in HBsAg prevalence between 1990 and 2005. East Asia and Western Europe experienced some increase.

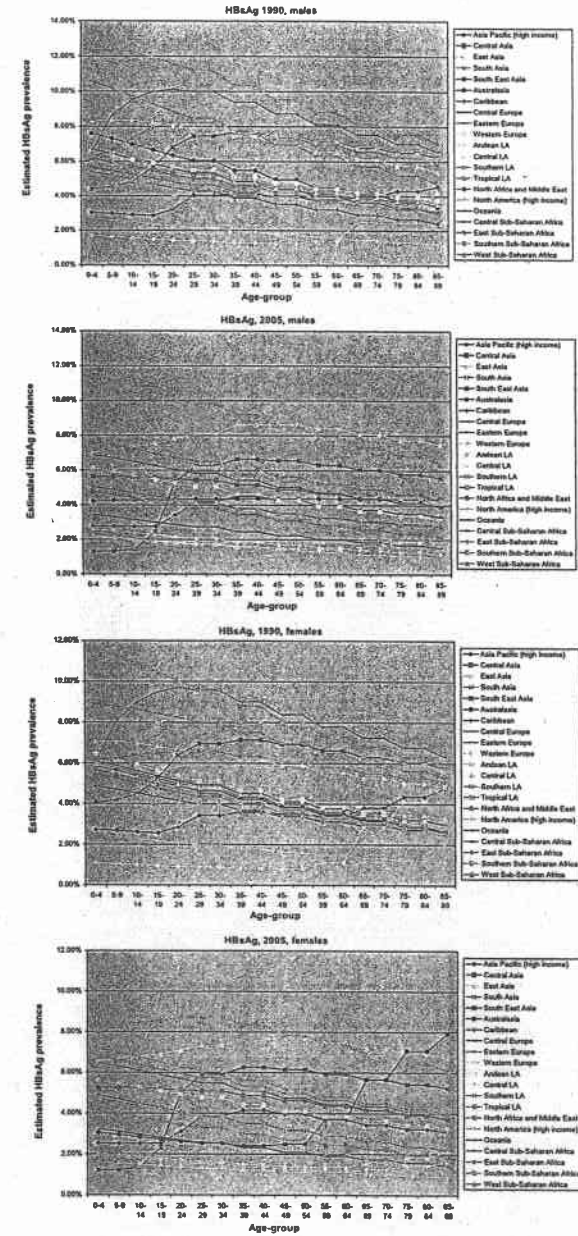
Global differences between males and females were small, although females had a lower overall HBsAg prevalence of 3.5% in



Map 1. Map for children.



Map 2. Map for adults.



Figs. 2-5. HBsAg seroprevalence by region and age-group for males and females separately, 1990 and 2005.

Table 1
Overview: Global HBsAg and people chronically infected.

Year	Males		Females		Both	
	Persons HBsAg positive	Prevalence	Persons HBsAg positive	Prevalence	Persons HBsAg positive	Prevalence
1990	118 million	4.4	105 million	4.0	223 million	4.2
2005	127 million	3.9	113 million	3.5	240 million	3.7

2005 compared to 3.9% in males. We estimated 240 million people chronically infected worldwide in 2005 (Table 1).

3.1. HBsAg prevalence by GBD world region (Tables 2–5: Web Annex 3)

HBV prevalence was most common in sub-Saharan regions of Africa. *Western sub-Saharan African* countries had some of the highest age-specific HBsAg prevalence in the world reaching up to 12% among children and adolescents in the age-groups up to 19 years in 1990. Although there was a decrease in 2005, the region continued to have high HBV endemicity, which is more pronounced among males.

An increase in chronic HBV infection among younger age-groups (0–14 years) occurred in *Southern sub-Saharan Africa* in 2005 compared to 1990 that resulted in age-specific prevalence of 8–9% among young females. Also *Eastern sub-Saharan African* countries faced an increase in the youngest ages and almost no change in other age-groups. In 2005, prevalence peaked at approximately 7% in 0–4 years aged boys and girls and declined with age in this region.

A decrease in prevalence was evident in *Central sub-Saharan Africa* which transitioned from high endemicity among younger individuals (age-groups up to 34 years) in 1990 into intermediate endemicity across all ages in 2005.

North Africa and the Middle Eastern region showed lower intermediate HBsAg endemicity across all age-groups in 2005. Prevalence decreased from 1990 to 2005, particularly among males up to 34 years.

The prevalence in high-income countries of North America (Canada and the United States) was low and declined among both sexes and across all ages between 1990 and 2005. Males had higher HBsAg positivity than females in both periods, peaking in the male 0–4 years age-group at 2.71% and 2.14% in 1990 and 2005, respectively. The oldest ages (65+ years) showed the lowest prevalence of approximately 1% in 2005.

Both *Tropical Latin America* and *Central Latin America* demonstrated a strong decrease in HBsAg prevalence between 1990 and 2005. *Tropical Latin America* changed from an intermediate into a low endemicity region. Where 0–9 year aged boys had a higher intermediate endemicity of over 5% in 1990, HBsAg prevalence was only 1.6% in 2005. Similarly, in *Central Latin America* prevalence has halved in this period and most adult age-groups shifted to a low endemicity level in 2005. Other Latin American regions such as *Andean Latin America* and *Southern Latin America* showed a decreasing prevalence by age but relatively constant intermediate endemicity levels. A slight decline in prevalence from 1990 to 2005 among *Andean Latin Americans* was paralleled by an increase in HBsAg prevalence in *Southern Latin America*.

HBV chronic infection rates in *Caribbean* children and adolescents aged 0–19 years ranged from 4.3% to 5.4% and was fairly constant over time. HBsAg prevalence decreased with age.

In the island nations of the Pacific and Indian Oceans (*Oceania*), HBsAg was highly endemic among men and women in 1990, peaking at approximately 10% in men aged 10–34. The decrease in prevalence up to 2005 led to a shift into a higher intermediate endemicity level among the age-groups up to age 54 and into a lower intermediate endemicity level in older adults (55+).

Among the European regions, seroprevalence of HBsAg showed consistently low prevalence in *Western Europe*. This was particularly true for females who had prevalence below 2% throughout the time periods. Nevertheless, between 1990 and 2005, an increase in both sexes was observed that led to a change from initially low endemicity in young males to a low-intermediate endemicity level in 2005: this was accompanied by a decrease in prevalence in the older individuals (65+ years). *Central and Eastern European* children had a higher intermediate HBsAg endemicity in 1990, which decreased in 2005. Older *Central European* females in particular demonstrated a strong HBsAg prevalence decrease up to 2005. Prevalence in infant and young girls declined from 6% in 1990 to 3% in 2005 in this region. In contrast, *Eastern European* countries did not experience as strong a reduction in HBsAg prevalence in the youngest age-groups. In both *Central and Eastern Europe* the age group 0–9 years remains the most affected by HBsAg infection.

Among all Asian regions, *East Asia* had the highest prevalence of HBV infection and there was not much of a change between 1990 and 2005 apart from a slight decrease in children and an increase in all age-groups above 25 years in 2005 as compared to 1990. In 1990, prevalence decreased in both sexes with age, but increased with age in 2005 and showed the highest prevalence of over 8% among males aged over 35 years. Generally, endemicity remains at high or close to a high endemicity in this region, which is particularly true for males. Intermediate HBsAg endemicity was also estimated for *Central Asia*, which includes the Caucasus and central Asian countries. A small decrease was observed between 1990 and 2005 but *Central Asian* children and younger adults had an HBsAg prevalence of around 5% in 2005. In *South Asia*, approximately 3% of the population up to age 45 was HBsAg positive with a decrease in older individuals who demonstrated a low prevalence in 2005.

Unlike other Asian regions, *South East Asia* experienced a strong reduction in HBsAg prevalence between 1990 and 2005, particularly in the young age groups of 0–14 years that had prevalence levels of 1.2–1.4% in 2005. In contrast, *South East Asian* adults appeared to continuously have higher-intermediate HBsAg prevalence of 5% to over 6% in 2005. The pattern of an increasing prevalence with age was very pronounced in 1990 and rather exceptional compared to the other regions.

Some reduction in HBsAg prevalence between 1990 and 2005 occurred also in high income *Asian Pacific* countries including Japan, the Republic of Korea, and Singapore. The middle ages (25–54) were the most affected age groups but overall, endemicity remained at an lower intermediate level of approximately 4% in 2005. Interestingly, in 1990 the oldest age-groups of over 75 years had the highest prevalence among all age-groups.

Australasian countries experienced a reduction in HBsAg prevalence and were categorized as a lower intermediate endemicity region in 2005. Males of all age-groups had prevalence in the range of 4% in 2005 whereas 2–3% of females up to age 55 were affected by chronic HBV infection with a sharp increase in the oldest age-groups.

4. Discussion

We found a very large burden of HBsAg infection in all sub-Saharan African regions, East Asia and, to a lesser extent, in Oceania

and Andean Latin America. Most other regions with high and middle income showed a mix of lower and higher intermediate HBV endemicity. Only a few regions demonstrated prevalence below 2% throughout most age-groups. Among these were *Tropical Latin America*, *Central Latin America*, *North America* and *Western Europe*. There was an overall decrease in HBsAg prevalence from 1990 to 2005 in younger age-groups, which may be closely related to widespread hepatitis B immunization, particularly in low income regions. Significant decreases in HBsAg prevalence due to immunization were reported from African countries such as the Gambia [15,16] and Senegal [17]. However, the infection remains extremely prevalent in sub-Saharan Africa and the attributable HBV-related disease burden can be expected to remain high. This is also reflected in a high mortality from primary liver cancer, one sequelae of chronic HBV infection and the most frequent cause of cancer deaths among men in this region [18].

The observed decreases in HBsAg prevalence in North America and Europe were temporally associated with increased hepatitis B vaccine coverage rates [19], improved screening of blood products and increased availability of safe injection materials [20,21]. The generally low HBsAg endemicity levels in these countries are paralleled by a steady decline in reported cases of acute hepatitis B [22,23]. On the other hand, the large number of individuals infected with HBV influences the number of liver cirrhosis and cancer cases in many world regions including high income countries [24] and highlights a need for screening and surveillance programs to identify chronically infected individuals and thereby prevent further transmission as well as to provide opportunities for secondary and tertiary prevention [3].

Asian countries, for example those in the GBD South East and East Asian regions, have also has experienced dramatic increases in coverage of routine infant hepatitis B vaccine that were accompanied by a reduction in HBsAg prevalence. The impact of this decrease in HBsAg prevalence was also measurable in a substantial reduction in the HBV-related disease burden in countries that were highly endemic in the past e.g. Taiwan [25,26] and China [27,28].

Strengths of this study include the extensive systematic literature review and the use of an empirical Bayesian hierarchical model to estimate region-specific HBsAg prevalence and endemicity and to subsequently calculate the absolute number of people being chronically infected with the HBV.

This study has a number of limitations. Observed HBsAg prevalence data are lacking in some regions and the quality of studies reporting these data is often low. Middle- and low income regions, e.g. Oceania, Central Asia, and Andean Latin America had a limited evidence base or studies were concentrated on one country as is the case with India as part of the South Asian region or Thailand located in the South East Asian region. Accordingly, simulations of prevalence may lead to potential underestimation of the true regional profile, particularly if studies were more likely to be conducted in countries with higher economic standards and better research infrastructure. To address issues of representativeness, grey and non-English literature should be considered in future studies and there is a need for generating more high quality data from low resource settings. Most high quality studies were conducted in high income countries, for example the Western European region. Nationally representative, population-based studies reporting HBsAg prevalence were only available from the US.

Another limitation is related to factors that were not considered in our analysis such as genotype information. It is known that viral genotypes vary between and within countries, depending on the populations at risk and their geographical origin. Very few HBV prevalence studies report on genotype and the genotype-specific HBV distribution by country has not been sufficiently studied. As a result, we did not adjust for this information, which might be crucial given the fact that some genotypes are associated with more

severe disease or clinical response to treatment [29–31]. Similarly, the laboratory method used to detect HBsAg was only reported in a few studies and we did not consider this factor in the analysis, which could impact the comparability of HBsAg prevalence across studies.

Since the overall objective of this study is to provide a regional picture of HBV prevalence, the results do not capture the potential heterogeneity that exists between sub-populations within a country. It should be noted that some low endemicity areas in Western Europe and North America face great intra-country variation with higher prevalence and higher hepatitis-related mortality among migrants [32–35] and additional country-specific data would be crucial for comprehensively guiding national hepatitis B prevention and control programs and targeting most vulnerable population groups.

Prevalence data obtained from systematic reviews and modeling should be interpreted conservatively. Descriptive epidemiological research conducted in high income areas may generally focus more on marginalized and higher risk populations whereas studies from low income regions may focus on urban and higher educated populations that experience lower infection rates than those living in poorer areas. As a result, the prevalence of chronic HBV infection reported in this study could be overestimated for high income regions and underestimated for low income regions. This would, however, increase the estimated differences between these regions and support our findings.

There is a need for systematically collected and population-based HBV infection data. Data on other markers of HBV such as HBeAg and anti-HBc are also needed to describe current and future HBV-related disease burden.

Acknowledgements

We greatly acknowledge the contribution and efforts of Abraham Flaxman for providing invaluable guidance on using and adapting Dismod III, and Seth Flaxman for adapting Dismod III for our purposes. We greatly acknowledge the efforts of Don Ward (†Deceased September 7, 2010) and his team who abstracted the studies. We thank Erica Din, Craig Lammert and Melissa Creary for their work with searching, abstracting and organizing data. We acknowledge the assistance of Claire Preaud for geographical maps.

Contributors: JJO wrote the manuscript, modeled, analyzed, and interpreted the data. GAS provided guidance on data modeling and contributed to writing. JG designed and conducted the literature search and reviewed articles. STW initiated the study, supervised all components of the study and contributed to writing the manuscript.

Conflict of interest statement: None declared.

Funding: We acknowledge the financial support of the Centers for Disease Control and Prevention's Division of Viral Hepatitis, the World Health Organization and the Bill and Melinda Gates Foundation.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at doi:10.1016/j.vaccine.2011.12.116.

References

- [1] Hyams KC. Risks of chronicity following acute hepatitis B virus infection: a review. *Clin Infect Dis* 1995;20:992–1000.
- [2] McMahon BJ, Alward WL, Hall DB, et al. Acute hepatitis B virus infection: relation of age to clinical expression of disease and subsequent development of the carrier state. *J Infect Dis* 1985;151:599–603.

[3] Weinbaum CM, Williams I, Mast EE, Wang SA, Finelli L, Wasley A, et al. Recommendations for identification and public health management of persons with chronic hepatitis B virus infection. MMWR Recomm Rep 2008;57:1–20.

[4] Wong SN, Lok AS. Treatment of hepatitis B: who, when and how. Arch Intern Med 2006;166:9–12.

[5] Goldstein ST, Alter MJ, Williams IT, et al. Incidence and risk factors for acute hepatitis B in the United States, 1982–1998: implications for vaccination programs. J Infect Dis 2002;185:713–9.

[6] Goldstein ST, Zhou F, Hadler SC, Bell BP, Mast EE, Margolis HS. A mathematical model to estimate global hepatitis B disease burden and vaccination impact. Int J Epidemiol 2005;34:1329–39.

[7] Ott JJ, Ullrich A, Mascarenhas M, Stevens GA. Global cancer incidence and mortality caused by behavior and infection. J Public Health (Oxf) 2011;33:223–33. Epub 2010 Oct 8.

[8] Shepard CW, Simard EP, Finelli L, Fiore AE, Bell BP. Hepatitis B virus infection: epidemiology and vaccination. Epidemiol Rev 2006;28:112–25.

[9] Bréchet C, Thiers V, Kremsdorff D, Nalpas B, Pol S, Paterlini-Brechot P. Persistent hepatitis B virus: clinically significant of purely occult. Hepatology 2001;34:194–203.

[10] McQuillan GM, Coleman PJ, Kruszon-Moran D, Moyer LA, Lambert SB, Margolis HS. Prevalence of hepatitis B virus infection in the United States: The National Health and Nutrition Examination Surveys, 1976 through 1994. Am J Public Health 1999;89:14–8.

[11] Wasley A, Kruszon-Moran D, Kuhnert W, Simard EP, Finelli L, McQuillan G, et al. The prevalence of Hepatitis B Virus infection in the United States in the Era of Vaccination. J Infect Dis 2010;202:192–201.

[12] DISMOD III: http://winthrop.ihme.washington.edu/public/DISMOD_III_complete_repository_of_the_DISMOD_code. Available from: <https://github.com/afaxman/gtd/tree/master/dismod3>.

[13] CBD 2005 Study. Global Burden of Diseases, Injuries and Risk Factors Study operations manual (final draft, January 2009). Available from: <http://www.globalburden.org>.

[14] Hoofnagle JH. Chronic hepatitis B. N Engl J Med 1990;323:337–9.

[15] Viviani S, Jack A, Hall AJ, et al. Hepatitis B vaccination in infancy in the Gambia: protection against carriage at 9 years of age. Vaccine 1999;17:2946–50.

[16] Whittle H, Jaffar S, Wansbrough M, et al. Observational study of vaccine efficacy 14 years after trial of hepatitis B vaccination in Gambian children. BMJ 2002;325:569–73.

[17] Coursager F, Leboulloux D, Soumare M, et al. Twelve-year follow-up study of hepatitis B immunization of Senegalese infants. J Hepatol 1994;21:250–4.

[18] Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. GLOBOCAN 2008, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 10. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2010 [Internet]. Available from: <http://globocon.iarc.fr>.

[19] WHO vaccine-preventable diseases: monitoring system. 2010 global summary. WHO; 2010. Available from: http://www.who.int/immunization/documents/who_ivb_2010/en/index.html.

[20] Report of the Safe Injection Global Network (SIGN) meeting 2010. WHO; 2010. Available from: http://www.who.int/injection_safety/toolbox/sign2010_meeting.pdf.

[21] World Health Organization (WHO). Hepatitis B position statement. Wkly Epidemiol Rec 2009;84:405–20.

[22] Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Surveillance for acute viral hepatitis – United States, 2005. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2008;57:552.

[23] Rantala M, van de Laar MJV. Surveillance and epidemiology of hepatitis B and C in Europe – a review. Euro Surveill 2008;13.

[24] Lavanchy D. Hepatitis B virus epidemiology, disease burden, treatment, and current and emerging prevention and control measures. J Viral Hepat 2004;11:97–107.

[25] Lin YC, Chang MH, Ni YH, Hsu HY, Chen DS. Long-term immunogenicity and efficacy of universal hepatitis B virus vaccination in Taiwan. J Infect Dis 2003;187:134–8.

[26] Lee CL, Hsieh KS, Ko YC. Trends in the incidence of hepatocellular carcinoma in boys and girls in Taiwan after large-scale hepatitis B vaccination. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2003;12:57–9.

[27] Liao SS, Li RC, Li H, et al. Long-term efficacy of plasma-derived hepatitis B vaccine: a 15-year follow-up study among Chinese children. Vaccine 1999;17:2661–6.

[28] World Health Organization. Progress towards meeting the 2012 hepatitis B control milestone: WHO Western Pacific Region, 2011. Wkly Epidemiol Rec 2011;86(19):180–8.

[29] Pan CQ, Zhang JX. Natural history and clinical consequences of hepatitis B virus infection. Int J Med Sci 2005;2:36–40.

[30] Livingston SE, Simonetti JP, McMahon BJ, et al. Hepatitis B virus genotypes in Alaska Native people with hepatocellular carcinoma: preponderance of genotype F. J Infect Dis 2007;195:5–11.

[31] Schaefer S. Hepatitis B virus: significance of genotypes. J Viral Hepat 2005;12:111–24.


[32] Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Screening for chronic hepatitis B among Asian/Pacific Island populations – New York City, 2005. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2006;55:505–9.

[33] Maffre C, Le Strat Y, Delarocque-Astagneau E, et al. Prevalence of hepatitis B and C virus infection in France in 2004: social factors are important predictors after adjusting for known risk factors. J Med Virol 2010;82:546–55.

[34] McMahon BJ, Schoenberg S, Bulkow L, et al. Seroprevalence of hepatitis B viral markers in 52,000 Alaska Natives. Am J Epidemiol 1993;138:544–9.

[35] Ott JJ, Paltiel AM, Winkler V, Becher H. Chronic disease mortality associated with infectious agents: a comparative cohort study of migrants from the Former Soviet Union in Israel and Germany. BMC Public Health 2008;8:110.

医薬品 研究報告 調査報告書

識別番号・報告回数	報告日	第一報入手日	新医薬品等の区分	総合機構処理欄
解凍人赤血球濃厚液 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)	2012. 3. 19	該当なし	公国 米国	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
研究報告の概要 ○米国の供血者におけるHIV、B型肝炎、C型肝炎ウイルス(HCV)の変異は、診断検査法と治療に影響を及ぼす場合がある。サブタイプやジェノタイプ、薬剤や免疫耐性変異の最近の変化については、最近感染した(incident)供血者としてより以前に感染した(prevalent)供血者を比較することによって特徴付けられる。 方法：感染した供血者は、3,400万人の米国の供血者間(2006–2009年)から特定された。プロテアーゼ阻害剤耐性変異は2%、逆転写酵素(RT)阻害剤耐性変異は11%の感染供血者に見られた。 結果：312のHIV株(50%がincident)のうち、2.5%はサブタイプの割合は1a>1b>3a>2b>2a>4a>6d, 6eであった。incident症例では3aが高頻度で発見されたのに対し、prevalent症例では1bが高頻度で発見された(P=.04)。 193のHBV株(26%がincident)の間200のサブタイプの間の20%のサブタイプは、incident症例ではA1、B2、B4がより高い頻度で見られた(P=.007)。HBV株の薬剤耐性変異は検出されなかった。HBVのエンスケープコミュニティデータベースは、incident症例では6%であるのに対し、prevalent症例では26%に見られた(P=.01)。 結論：供血者のウイルスジェノタイプの変異分布は、米国の高リスク集団のジェノタイプ分布と類似していた。大規模な通常の供血者スクリーニングを通じて血液媒介ウイルスを検出することで、高暴露人口の分子サブタイプ変異の研究を補完することが出来る。	今後の対応 日本赤十字社では、化学発光酵素免疫測定法(CLEIA)によりHIV抗体、HBs抗原、HBe抗体、HCV抗体検査を実施することに加えて、精度を向上させたNATシステムを導入し、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。HIV、HBV、HCV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。			
報告企業の意見 米国の供血者におけるHIV、HBV、HCVの遺伝的変異と流行を調べたところ、ウイルスジェノタイプの変異分布は米国の高リスク集団の分布と類似していたとの報告である。				

Genetic Diversity of Recently Acquired and Prevalent HIV, Hepatitis B Virus, and Hepatitis C Virus Infections in US Blood Donors

Eric Delwart,^{1,2} Elizabeth Slikas,¹ Susan L. Stramer,³ Hany Kamel,⁴ Debra Kessler,⁵ David Krysztof,³ Leslie H. Tobler,¹ Danielle M. Carrick,⁶ Whitney Steele,⁶ Deborah Todd,⁶ David J. Wright,⁶ Steven H. Kleiman,^{6,7} and Michael P. Busch^{1,2} for the NHLBI-REDS-II Study Group

¹Blood Systems Research Institute, San Francisco, California; ²University of California, San Francisco; ³American Red Cross, Gaithersburg, Maryland; ⁴Blood Systems, Inc, Scottsdale, Arizona; ⁵New York Blood Center, New York; ⁶Westat, Inc, Rockville, Maryland; and ⁷University of British Columbia, Victoria, Canada

(See the editorial commentary by Katz, on pages 867–9 and see the article by Stramer et al, on pages 886–94.)

Background. Genetic variations of human immunodeficiency virus (HIV), hepatitis C virus (HCV), and hepatitis B virus (HBV) can affect diagnostic assays and therapeutic interventions. Recent changes in prevalence of subtypes/genotypes and drug/immune-escape variants were characterized by comparing recently infected vs more remotely infected blood donors.

Methods. Infected donors were identified among approximately 34 million US blood donations, 2006–2009; incident infections were defined as having no or low antiviral antibody titers. Viral genomes were partially sequenced.

Results. Of 321 HIV strains (50% incident), 2.5% were non-B HIV subtypes. Protease and reverse transcriptase (RT) inhibitor resistance mutations were found in 2% and 11% of infected donors, respectively. Subtypes in 278 HCV strains (31% incident) yielded 1a>1b>3a>2b>2a>4a>6d, 6e: higher frequencies of 3a in incident cases vs higher frequencies of 1b in prevalent cases were found ($P = .04$). Twenty subgenotypes among 193 HBV strains (26% incident) yielded higher frequencies of A2 in incident cases and higher frequencies of A1, B2, and B4 in prevalent cases ($P = .007$). No HBV drug resistance mutations were detected. Six percent of incident vs 26% of prevalent HBV contained antibody neutralization escape mutations ($P = .01$).

Conclusions. Viral genetic variant distribution in blood donors was similar to that seen in high-risk US populations. Blood-borne viruses detected through large-scale routine screening of blood donors can complement molecular surveillance studies of highly exposed populations.

Volunteer (nonremunerated) blood donors provide whole blood and apheresis blood components used for transfusions as well as plasma for manufacture into therapeutic plasma derivatives. Past injection drug users (IDUs) and men who have had sex with men (MSM) since 1977 are currently excluded from donating. All donations in the United States are screened for

antibodies to human immunodeficiency virus (HIV), hepatitis C virus (HCV), and hepatitis B virus (HBV), as well as for HIV and HCV RNA and HBV surface antigen (HBsAg); HBV DNA screening was widely implemented in 2009. Antibody and/or RNA/DNA/antigen-positive donors are notified, counseled, and excluded from further donation; all donations from viral marker-reactive donors are destroyed or used for research.

Blood donor screening can provide an efficient geographic and demographic sampling of individuals infected with these viruses that differ from the predominantly high-risk MSM and IDU populations that are the subjects of most viral molecular epidemiological studies. By routinely identifying recently acquired or incident infections, blood donation screening also

provides an opportunity to analyze very recently transmitted viral strains at the forefront of currently active transmission chains. In this study, plasma samples from donors containing HIV, HBV, and HCV nucleic acids were classified as either recently acquired (incident) infections containing no or low concentrations of viral antibodies, or longer-term seropositive (prevalent) infections. Viral subtypes, drug resistance, and immune escape mutations were determined from representative incident and prevalent infections.

MATERIALS AND METHODS

Subjects, Specimens, and Case Definitions

This study included qualifying donations from 1 January 2006 through 31 December 31 2009 from 3 Retrovirus Epidemiology Donor Study-II (REDS-II) blood centers (Blood Centers of the Pacific, Blood Center of Wisconsin, and Hoxworth Blood Center/University of Cincinnati), all American Red Cross (ARC) Blood Services regions with data and samples provided through the Scientific Support Office in Gaithersburg, Maryland, and United Blood Services regions and the New York Blood Center (NYBC), with samples provided by Blood Systems Laboratory in Tempe, Arizona. Together, these centers account for approximately 70% of the US blood supply.

Data provided for all confirmed-positive donations included the date of donation, first-time/repeat donor status, date of birth, state of residency, race/ethnicity (if available), and sex. Screening and confirmatory test results for HIV and HCV nucleic acid testing (NAT), HIV and HCV antibody (Ab), HBsAg, and anti-HBV core antibody (anti-HBc) were also provided. Serologic and NAT screening and confirmatory testing were performed according to previously described algorithms using Food and Drug Administration (FDA)-licensed assays with documented performance characteristics including analytical sensitivities of NAT assays [1–4]; see Appendix). Centers were requested to send residual test samples or samples from retrieved plasma units for all donors who qualified for study. Samples were stored at $\leq -20^{\circ}\text{C}$ prior to testing.

Informed Consent and IRB Approvals

Institutional review board (IRB)-approved information sheets were provided to donors explaining that (1) surplus samples of their donations may be used for research purposes, (2) future research may be performed with the donor's blood without further consent if the IRB considers the research to be of negligible risk, (3) he or she will be contacted for additional consent depending on the nature of further research as determined by the IRB, and (4) the donor will be notified of any medically relevant information. IRBs representing each blood organization and the REDS-II Data Coordinating Center (Westat) approved the study protocol and determined that data related to HIV drug resistance mutations should be provided

to donors as this may impact their treatment strategies; blood donors were not notified of other study results.

Sample Selection

The goal was to sequence samples from 150 incident and 150 prevalent cases for each virus over the 4-year study period. Samples with adequate volume from cases were consecutively selected from the contributing sites starting with donations made on January 1 2006 until the desired number of cases from a site was reached. Due to large numbers of HCV- and HBV-prevalent cases, site-specific sample numbers were based on proportions established by weighting the number of such donations detected by center in 2004 prior to study initiation. For donors selected for study with reported coinfections, each infecting virus was sequenced.

Viral Nucleic Acid Testing

Qualitative assays for HBV DNA (HBV Ampliscreen; Roche) were performed on HBsAg-positive/anti-HBc-negative donations to exclude possible incident cases that were likely due to false HBsAg positive results [1]. Viral load distributions were determined for all available samples that could not be amplified for sequence analysis, as well as a representative subset of successfully genotyped cases (Abbott RealTime HIV-1, HCV, and HBV Assays, Abbott Laboratories). All tests for this study, except for viral load determinations performed at Abbott Laboratories and routine donor screening and confirmation performed at blood center testing labs, were performed at the Blood Systems Research Institute.

Incidence Testing

Incident infections among HIV RNA-positive donors were defined as samples that were HIV-antibody negative or HIV-antibody positive with a less sensitive (LS) or "detuned" enzyme immunoassay (EIA; Vironostika HIV-1 MicroElisa; bioMérieux) with standardized-optical-density (SOD) ratio <1.0 using the serologic testing algorithm for recent HIV seroconversion, indicating that the infection was probably acquired <6 months prior to blood donation [5–7]. Conversely, HIV antibody-positive donations from first-time donors with LS-EIA SOD ratios ≥ 1.0 were defined as HIV-prevalent infections [8]. HCV RNA-positive and HBsAg-positive donations were classified as incident if anti-HCV and anti-HBc antibody tests, respectively, were nonreactive. HCV RNA and antibody positive donations were considered HCV-prevalent cases. HBsAg-positive/anti-HBc-reactive donations were considered HBV-prevalent infections. Starting with 2008 donations, HBV- and HCV-seropositive samples from repeat donors with a prior negative donation within the prior 2 years were also included as incident cases.

HIV, HCV, and HBV Sequencing

Total nucleic acid was extracted from 140 to 280 μL of plasma with QiaAMP Viral RNA Mini Kit or on a 96-well robotic

Received 31 May 2011; accepted 28 September 2011; electronically published 31 January 2012.

Correspondence: Eric Delwart, PhD, BSRI, 270 Masonic Ave, San Francisco, CA 94118 (delwarte@medicine.ucsf.edu).

The Journal of Infectious Diseases 2012;205:875–85

© The Author 2012. Published by Oxford University Press on behalf of the Infectious Diseases Society of America. All rights reserved. For Permissions, please e-mail journals.permissions@oup.com

DOI: 10.1093/infdis/jir862

platform (QIAxtractor with Reagent Pack VX, Qiagen). Complementary DNA for HIV and HCV was synthesized using M-MLV reverse transcriptase and random primer (0.5 µg/µL) according to the manufacturer's instructions (Promega) and stored at -20°C.

Nested PCR was used to amplify an informative region of each virus. For HIV, a fragment of 1275 base pairs (bp) was amplified, including the protease and reverse transcriptase genes, using previously described PCR primers and conditions [9]. For HCV, a fragment of 363 bp in the core gene was amplified [10]. For HBV, a fragment of 2015 bp, including the envelope and polymerase genes, was amplified (Supplementary Methods in Appendix).

Sequence Analysis

Sequences were edited using Sequencher (version 4.9, Gene Codes Corporation). For HIV, the calibrated population resistance tool [11, 12] available through the Stanford University HIV Drug Resistance Database [13, 14] (<http://cpr.stanford.edu/cpr.cgi>) was used to determine subtype and identify transmitted drug resistance mutations in untreated persons. Mutations listed as causing or contributing to resistance are nonpolymorphic in untreated persons and apply to all HIV-1 subtypes in accordance with World Health Organization guidelines.

HCV sequences were subtyped using 2 online tools: the Oxford HCV subtyping tool (<http://www.bioafrica.net/rega-genotype/html/subtypinghcv.html>), a method based on phylogenetic analysis, and the NCBI viral genotyping tool, based on a sliding-window BLAST comparison (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/genotyping/formpage.cgi>).

HBV genotypes were determined using 2 online tools: Oxford HBV subtyping tool (<http://www.bioafrica.net/rega-genotype/html/citetoolhbv.html>), a method based on phylogenetic analysis [15, 16], and the STAR genotyping tool available online at the University College London Center for Infection and Immunity (<http://www.vgb.ucl.ac.uk/starn.shtml>). The STAR tool uses distances to reference genomes and a statistical model to assign genotypes [17]. The polymerase sequence was checked for drug resistance mutations using the mutation annotator tool available online at the HepSEQ-Research Database System website (http://www.hepseq.org/Public/Web_Front/main.php). To identify potential antibody neutralization escape mutations, a list of mutations from the literature was compiled [18, 19], and sequences were manually aligned and compared with the reference list. GenBank accession numbers are JN214594-JN215208 and JN604118-JN604319.

Statistical Methods

Fisher exact test was used to compare the variant (subtype, genotype, and drug resistance mutation) distribution among incident cases to that among prevalent cases for each virus. Because molecular characterization could not be performed for all

submitted cases, logistic regression was used to assess the ability to successfully characterize viral strains as a function of viral load and donor type (ie, incident vs prevalent cases). Analyses were conducted using SAS 9.2 software (SAS Institute).

RESULTS

HIV, HCV, and HBV Infection Rates and Demographic Characteristics

From 1 January 2006 through 31 December 2009, the participating blood organizations screened 33 947 146 allogeneic donations, including 5 968 986 (17.6%) from first-time and 27 950 520 (82.3%) from repeat donors; prior donation status information was not provided for 27 640 (0.1%) donations. For each virus, frequencies were generated by donor status (first-time vs repeat) and donor demographic characteristics (sex, race/ethnicity, geographic region, and age) (Table 1). A disproportionate risk of infection by all 3 viruses was noted for first-time, male, black, and Hispanic donors, except for HBV where infection rates were the highest among Asians, consistent with prior findings (Table 1) [1, 2, 20–22].

HIV Subtypes and Drug Resistance Profiles

A total of 438 donation samples from HIV confirmed-positive donors were selected for sequencing from the 1056 submitted samples (Figure 1A). The 200 incident cases selected for viral sequencing included 34 RNA-positive, antibody-negative (NAT yield) donations and 166 of 210 donations classified as recent seroconvertors based on low antibody titers by LS-ELI testing. A total of 238 of 320 prevalent HIV infections from first-time donors with high-titer antibody reactivity indicating long-standing infections were selected for further testing.

Of the 438 processed samples, 321 (73%) were successfully amplified and sequenced including 159 incident and 162 prevalent cases. Successful PCR amplification correlated with the viral load ($P < .0001$) Incident infections were 2.8-fold (95% confidence interval, 1.6–4.7) more likely to be genotyped than prevalent infections due to their higher viral loads (Figure 1B). Combining incident and prevalent cases, the success of obtaining sequences was approximately 10% if viral load was <1000 copies/mL, approximately 50% at 1000–10 000 copies/mL, and >90% if >10 000 copies/mL.

Of sequenced HIV strains, 97.5% (313) belonged to subtype B and 2.5% ($n = 7$) belonged to non-B subtypes: 4 subtype C (3 prevalent and 1 incident), 2 recombinant subtype CRF-02 (both incident) and 1 subtype D (incident) (Figure 1C). The number of non-B subtypes was too low to evaluate differences in frequency between incident and prevalent cases.

Four strains, all from incident cases, contained only protease inhibitor resistance mutations, and 33 strains (21 incident and 12 prevalent cases) contained only reverse transcriptase (RT) inhibitor resistance mutations (including 18 strains with only

Table 1. Numbers and Rates of Total Allogeneic Donations From Human Immunodeficiency Virus, Hepatitis C Virus, and Hepatitis B Virus Confirmed-Positive Donors by Donor Status (First-Time, Repeat) and Donor Demographic Characteristics Collected From 2 January 2006 Through 31 December 2009

Characteristics	Total Allogeneic Donations	All HIV Positive	Rate per 100 000 Donations	All HCV Positive	Rate per 100 000 Donations	All HBV Positive	Rate per 100 000 Donations
Total	33 947 146	1056	3.1	8015	23.6	3061	9.0
Donor status ^a							
First-time donors	5 968 986	633	10.6	6741	112.9	2561	42.9
Repeat donors	27 950 520	423	1.5	1274	4.6	500	1.8
Sex ^a							
Female	15 850 421	251	1.6	3047	19.2	1063	6.7
Male	18 054 540	805	4.5	4968	27.5	1995	11.0
Race or ethnicity ^a							
White	27 112 643	331	1.2	4399	16.2	651	2.4
Asian	510 633	24	4.7	81	15.9	848	166.1
Black	1 242 416	366	29.5	916	73.7	543	43.7
Hispanic	1 354 391	81	6.0	668	49.3	166	12.3
Other	628 302	37	5.9	211	33.6	189	30.1
Not available	3 071 121	217	7.1	1740	56.7	664	21.6
CDC regions ^a							
Midwest	10 523 749	172	1.6	900	8.6	292	2.8
Northeast	8 226 559	210	2.6	1957	23.8	913	11.1
South	8 911 822	474	5.3	3327	37.3	933	10.5
West	5 901 802	149	2.5	1760	29.8	900	15.2
Other	353 635	50	14.1	66	18.7	19	5.4
Age categories, years ^a							
<20	4 782 307	196	4.1	422	8.8	653	13.7
20–29	4 547 134	309	6.8	779	17.1	655	14.4
30–39	4 367 417	224	5.1	1023	23.4	576	13.2
40–49	7 080 519	201	2.8	2486	35.1	521	7.4
50–59	7 730 474	96	1.2	2696	34.9	428	5.5
60–69	3 927 177	26	0.7	478	12.2	163	4.2
≥70	1 482 979	4	0.3	131	8.8	65	4.4

Abbreviations: CDC, Centers for Disease Control and Prevention; HBV, hepatitis B virus; HCV, hepatitis C virus; HIV, human immunodeficiency virus.

^a Donations that did not have information for donor status, sex, race/ethnicity, CDC region, or age were excluded.

non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor resistance mutation K103N). Two prevalent infections contained both protease and RT inhibitor resistance mutations (pro-M46I,I84V,L90M and RT-M41L,D67N,Y181C,M184V,G190A,L210W,T215Y; and pro-M46I,L90M and RT-M41L,Y181C,T215D). Overall, 39 of 321 (12%) sequenced HIV strains showed the presence of a drug resistance mutation, including 6 (2%) directed to protease inhibitors and 35 (11%) to RT inhibitors; these were from 25 of 159 (15.7%) incident and 14 of 162 (8.6%) prevalent cases ($P = .06$).

HCV Subtypes

A total of 320 donation samples were selected for sequencing from 8015 HCV confirmed-positive donations (Figure 2A), including 112 of 153 HCV antibody-negative incident cases that had plasma aliquots available for testing. In addition, 12 incident cases were included based on antibody seroconversion within

the previous 2 years, resulting in a total of 124 incident HCV cases. Of the 5446 HCV RNA and antibody-positive donations from first-time donors with prevalent infections, 196 representative samples were selected for molecular testing.

Of the 320 samples processed for PCR amplification, 278 (87%) were successfully amplified and sequenced including 85 of 112 (68.5%) incident and 193 of 196 (99%) prevalent cases. Two of the successfully amplified HCV prevalent cases were coinfections; one donor also had an incident HIV infection and the second had a prevalent HBV infection. The probability of successful PCR amplification and sequencing was associated with viral load in the donors' plasma for both incident and prevalent cases ($P < .0001$) but not with whether the donor was classified as a prevalent or incident case (Figure 2B). All samples with viral loads <100 copies/mL were negative for HCV core amplicons, approximately 50% of samples with viral loads of

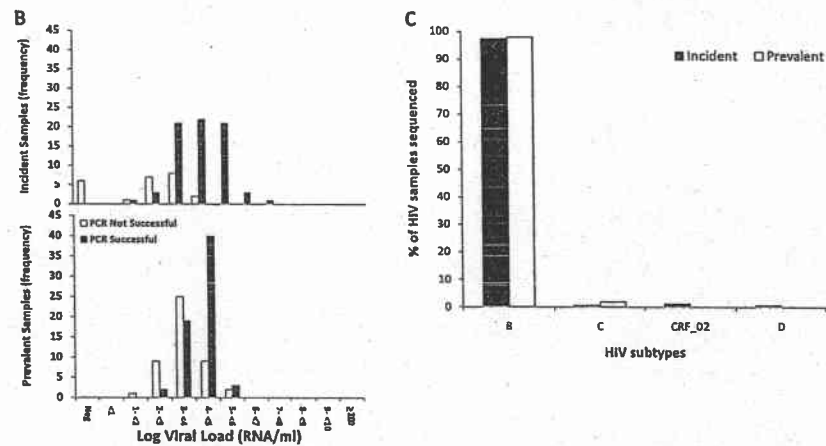
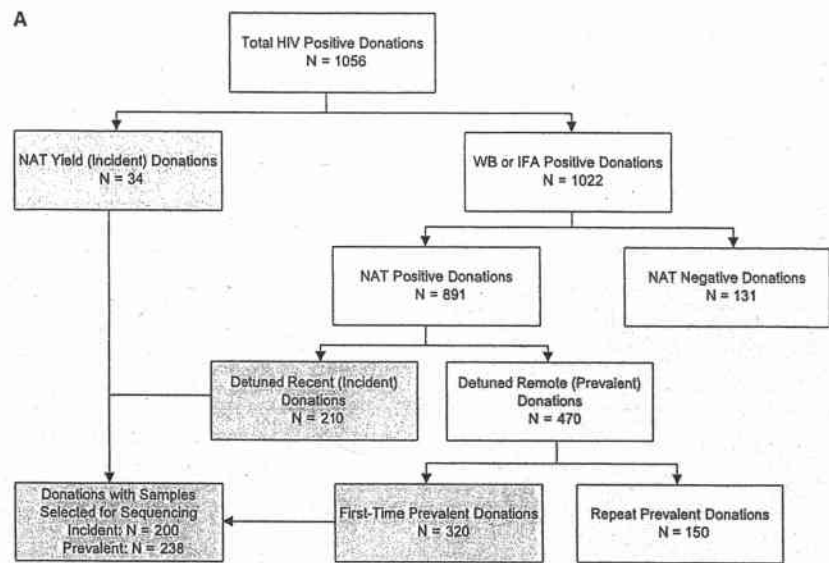


Figure 1. A, Algorithm for classification of human immunodeficiency virus (HIV)-positive donations as incident or prevalent infections for selection of cases for sequencing. Boxes in gray indicate the donations from which samples were selected for sequencing for this study. B, Histograms showing success of polymerase chain reaction (PCR) relative to viral loads; frequencies of donations from incident and prevalent cases are shown separately. C, HIV subtypes of sequenced samples by incident and prevalent case status. Abbreviations: NAT, nucleic acid testing; WB, Western blot.

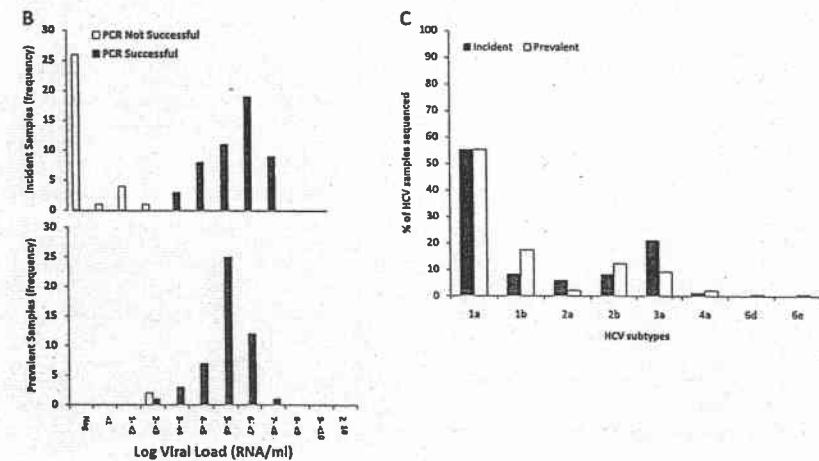
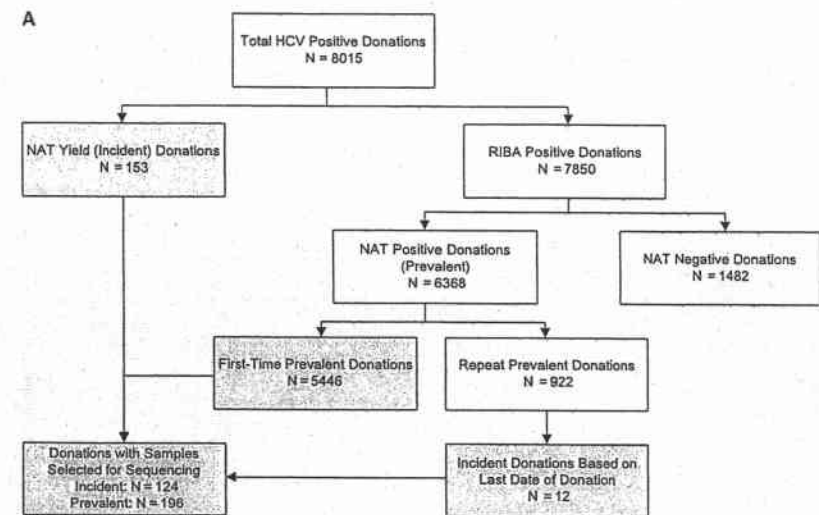


Figure 2. A, Algorithm for classification of hepatitis C virus (HCV)-positive donations as incident or prevalent infections for selection of cases for sequencing. Boxes in gray indicate the donations from which samples were selected for sequencing for this study. B, Histograms showing success of polymerase chain reaction (PCR) relative to viral loads; frequencies of donations from incident and prevalent cases are shown separately. C, HCV subtypes of sequenced samples by incident and prevalent case status. Abbreviations: NAT, nucleic acid testing; RIBA, recombinant immunoblot assay.

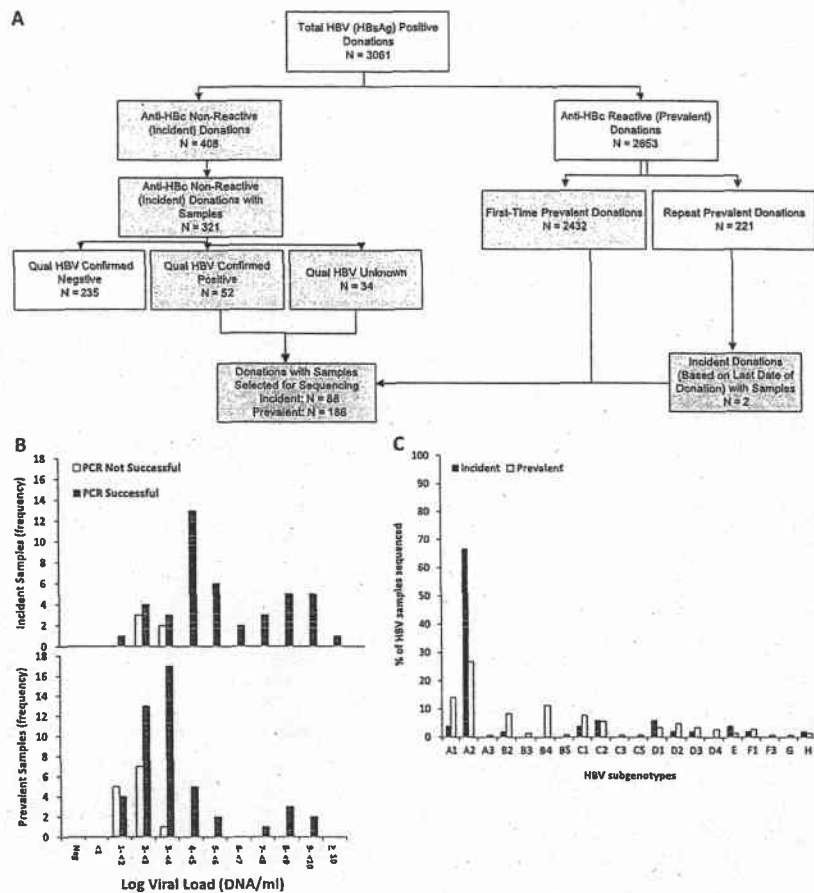


Figure 3. A, Algorithm for classification of hepatitis B virus (HBV)-positive donations as incident or prevalent infections for selection of cases for sequencing. Boxes in gray indicate the donations from which samples were selected for sequencing for this study. B, Histograms showing success of polymerase chain reaction (PCR) relative to viral loads; frequencies of donations from incident and prevalent cases are shown separately. C, HBV subgenotypes of sequenced samples by incident and prevalent case status. Abbreviations: HBc, anti-HBV core antibody; HBsAg, HBV surface antigen.

100–1000 copies/mL were successfully amplified and sequenced, and all samples with viral loads >1000 copies/mL yielded sequence data.

Eight subtypes of HCV were present with 1a being the dominant type in both incident and prevalent cases. The subtype distribution was 55% (n = 154) 1a, 15% (n = 41) 1b, 13% (n = 36) 3a, 11% (n = 31) 2b, 3% (n = 9) 2a, 2% (n = 5) 4a, and <1% 6d or 6e (n = 1 each) (Figure 2C). Incident donors had

significantly more subtype 3a strains (21% vs 9%) but significantly fewer subtype 1b strains (8% vs 18%) than did prevalent donors ($P = .04$).

HBV Genotype, Drug Resistance, and Immune Escape Profiles
Of 3061 confirmed HBsAg-positive donations, 321 were anti-HBc-nonreactive and available (Figure 3A). However, only 52 of these possible incident infections were HBV DNA

positive, whereas 235 tested HBV DNA negative, indicating either false-positive HBsAg neutralization results or recent receipt of the HBV vaccine with detection vaccine-derived HBsAg [1]. The 52 DNA-positive donations, plus the remaining 34 that were not tested for HBV DNA, along with 2 additional cases where HBV seroconversion occurred within 2 years of the index donation, comprised the 88 incident cases. Of the 2432 HBsAg confirmed-positive, anti-HBc-reactive donations from first-time donors, 186 representative samples were selected as prevalent infections for molecular testing.

Of the 274 HBsAg-positive plasma samples selected, 193 (70%) had successful amplification and sequencing of the envelope and polymerase regions. As with HIV and HCV, the probability of successful PCR amplification and sequencing correlated with viral load ($P < .0001$) but not with incident/prevalent status. Approximately 50% of samples that had <100 copies/mL were negative for HBV PCR amplicons; in contrast, 70% of samples with 100–1000 copies/mL and 98% of those with >1000 copies/mL yielded informative sequence data.

The 193 donor strains successfully sequenced included 51 (26%) antibody-negative incident cases and 142 seropositive prevalent cases (Figure 3B). A total of 20 HBV subgenotypes were identified consisting of 72 A2, 22 A1, 16 B4, 13 B2, 13 C1, 11 C2, 8 D1, 8 D2, 6 D3, 5 F1, 4 D4, 4 F1, 3 F2, 2 B3, and 1 each of the following subgenotypes: A3, B5, C3, C5, F3, and G (Figure 3C). Incident donors had significantly higher frequencies of subgenotype A2 (67%) vs those in prevalent donors (27%) who showed higher frequencies of subgenotypes A1, B2, C1, and D2 (8%–14% vs 0%–4%; $P = .007$).

Sequence analysis of the polymerase region of the 193 HBV strains did not detect any drug resistance-associated mutations. In the envelope sequences, 34 strains showed antibody neutralization escape-associated mutations, including 31 of 142 (22%) prevalent cases and a significantly lower proportion (3 of 52 [6%]) of incident cases ($P = .01$).

DISCUSSION

HIV subtype distribution varies in the United States depending on the population screened. Generally, the frequency of non-B subtypes has remained low in high-risk groups such as MSM and IDUs, as well as in non-IDU heterosexuals and blood donors [20–23]. The frequency of non-B subtype infections was greater in populations enriched for immigrants from nonclade B epidemic countries or military personnel who became infected overseas [24–28]. The frequency of non-B subtype in blood donors appears to be increasing at only a modest rate over the last 2 decades. Studies from the 1980s of seropositive donors and recipients of blood products found no nonclade B infections [23], whereas studies of seropositive donors from the 1990s identified approximately 1% nonclade B infections [7]; more recent

studies of infected donors identified since 2000 reported rates of nonclade B infection in the 2%–5% range [3, 20, 22], similar to the 2.5% rate documented here.

Because the samples analyzed here were from asymptomatic blood donors who denied knowledge of their HIV infection, their drug resistance mutations are likely attributed to resistant virus acquired from their sources of infection who are presumed to have been on antiviral therapies. The frequency of HIV drug resistance mutations among blood donors trended but was not significantly higher in incident vs prevalent infections ($P = .06$). A stable frequency of drug resistance mutations also applied when resistance to the more recently introduced protease and the longer used RT inhibitors were analyzed separately. The frequency of transmitted drug resistance mutations appears to be stable among blood donors based on comparisons of rates among incident and prevalent infections in this study and in prior studies of HIV in US blood donors [3, 7, 20], an observation in keeping with reported rates of transmitted drug resistance mutations in high-risk untreated groups [29–32].

There are currently 7 HCV genotypes that are further subdivided into 83 subtypes (<http://hcv.lanl.gov/content/sequence/HCV/classification/genotype.html>) [33] that can vary widely in their geographic distribution (<http://hcv.lanl.gov/components/sequence/HCV/geo/geo.comp>). In high-risk groups in the United States, subtypes 1a and 1b predominate, whereas in most other countries the majority of HCV infections belong to other subtypes. Because HCV transmissions in the United States occur mainly among young IDUs [34] and reinfections can displace the original resident strain [35, 36], the distribution of HCV genotypes may rapidly change. Eight HCV subtypes were identified here with 1a (55%) and 1b (15%) predominating. The subtype distribution in prevalent cases was nearly identical to that reported for HCV-seropositive samples collected in 1988–1994 from a population reflecting that of the US [37], which supports the validity of our sampling strategy. In this study, we document a higher frequency of subtype 3a (21% vs 9%) and a lower frequency of 1b (8% vs 18%) in incident vs prevalent donors in keeping with a recent analysis showing decreasing genotype 1 frequencies in younger vs older IDUs [38].

HBV genotypes also vary greatly in their geographic distribution. Currently there are 8 genotypes that can be further subdivided into at least 24 subgenotypes defined as having >4% nucleotide difference [39]. Twenty of these 24 subgenotypes were identified among the 193 sequenced HBV strains. When the frequencies of the subgenotypes were compared, A2 occurred more frequently in incident cases (67% vs 27%) while A1, B2, and B4 frequencies were higher in prevalent cases (8%–14% vs 0%–4%).

No HBV antiviral drug resistance mutations were observed. Drug-resistant HBV variants may be inefficient at transmission and/or establishment of a chronic infection

or may be underrepresented in the pool of HBV being actively transmitted by sexual or parenteral routes. Neutralization escape mutations in the HBV envelope protein were heavily over-represented in prevalent vs incident HBV infections (22% vs 6%). This observation is consistent with these mutations having been more strongly selected for in long-term infected donors in whom a strong antibody response develops than in very recent, anti-HBc-negative incident cases [40–43].

This study of viral diversity has several limitations. First, the analysis was restricted to infections detected as NAT or HBsAg positive by current blood supply screening assays, most of which were also confirmed antibody positive. Consequently, infections by highly divergent variants that would not be detected by these assays would not be identified. Given efforts of test manufacturers and regulators to ensure that blood donor screening and confirmatory tests are sensitive to viral variants, we believe that this issue has limited impact on our findings. Second, a moderate proportion of donations selected for molecular analysis were not able to be characterized due to failure of long-amplicon PCR. These results were largely explained by absence of detectable nucleic acid or lower viral load in the PCR-refractory samples. It is also well recognized that all donor screening assays have low but significant rates of false positivity, especially if the classification is made only upon the routine testing results and does not include further testing of an independent sample such as the retrieved frozen plasma unit or follow-up donor sample. This is a particular problem with possible NAT yield samples (ie, seronegative and reactive by a single NAT assay), as evidenced by the high rate of incident cases with negative PCR results in this study (Figure 2B), many of which are likely due to false-NAT results. Third, we performed bulk sequencing of PCR products and therefore may not have detected cases of dual infection or minor populations of drug resistance or immune escape variants represented in viral quasi-species.

Overall, our analysis indicates that the HIV epidemic is relatively stable in terms of subtypes and transmitted drug resistance mutations. The HCV data provide evidence of differences in subtypes between incident and prevalent cases that may be stochastically driven by random founder effects and/or result from immigration of infected individuals to the United States. The HBV subgenotypes also showed evidence of change, possibly driven by similar epidemiological factors. The relative frequencies of different viral genetic clades and resistance patterns observed in our study population showed general concordance with those in populations with admitted high-risk behavior [44, 45]. Molecular characterization of recently transmitted blood-borne viruses detected through the large-scale routine NAT and antibody screening of blood donors is therefore a good complement to studies in highly exposed populations. As predominant viral strains change over time, sequence data generated by such blood donor molecular surveillance studies

may be of use to adjust primers used in nucleic acid detection methods [46, 47], as well as the specificities of antibodies and antigens used in serologic assays [48–50] in order to maintain the high sensitivity of blood donation screening assays.

Supplementary Data

Supplementary materials are available at *The Journal of Infectious Diseases* online (http://www.oxfordjournals.org/our_journals/jid/). Supplementary materials consist of data provided by the author that are published to benefit the reader. The posted materials are not copyedited. The contents of all supplementary data are the sole responsibility of the authors. Questions or messages regarding errors should be addressed to the author.

Notes

Acknowledgments. We thank the staff at the following blood centers: ARC, Blood Systems Inc., NYBC, Blood Systems Laboratories, Blood Systems Research Institute (BSRI), and the ARC Scientific Support Office. We also thank Shihai Huang at Abbott Molecular Inc for performing viral load testing. Without their help, this study would not have been possible.

At the time of this writing, the Retrovirus Epidemiology Donor Study-II (REDS-II) was the responsibility of the following persons and organizations:

R. Cable, J. Rios, and R. Benjamin at ARC Blood Services, New England Region, Farmington, Connecticut; J. D. Roback at ARC Blood Services, Southern Region/Department of Pathology and Laboratory Medicine, Emory University School of Medicine, Atlanta, Georgia; R. A. Sacher, S. L. Wilkinson, and P. M. Carey at the Hoxworth Blood Center, University of Cincinnati Academic Health Center, Cincinnati, Ohio; E. L. Murphy, B. Custer, and N. Hirschler at the University of California, San Francisco, and BSRI and Blood Centers of the Pacific, San Francisco, California; D. Trinzli, R. Kakiya, and J. Kiss at The Institute for Transfusion Medicine, Pittsburgh, Pennsylvania; J. Gottschall and A. Mast at the Blood Center of Wisconsin, Milwaukee; J. Schulman and M. King at Westat, Inc (Coordinating Center), Rockville, Maryland; G. Nemo and S. A. Glynn at the National Heart, Lung, and Blood Institute, National Institutes of Health, Rockville, Maryland; M. P. Busch and P. J. Norris at the Central Laboratory, BSRI.

Financial support. This work was supported by National Institutes of Health, Heart, Lung, and Blood Institute (contracts N01-HB-47168, -47169, -47170, -47171, -47172, -47174, -47175, and -57181).

Potential conflicts of interest. All authors: No reported conflicts.

All authors have submitted the ICMJE Form for Disclosure of Potential Conflicts of Interest. Conflicts that the editors consider relevant to the content of the manuscript have been disclosed.

References

1. Zou S, Stramer SL, Notari EP, et al. Current incidence and residual risk of hepatitis B infection among blood donors in the United States. *Transfusion* 2009; 49:1609–20.
2. Zou S, Dorsey KA, Notari EP, et al. Prevalence, incidence, and residual risk of human immunodeficiency virus and hepatitis C virus infections among United States blood donors since the introduction of nucleic acid testing. *Transfusion* 2010; 50:1495–504.
3. Brennan CA, Stramer SL, Holzmayr V, et al. Identification of human immunodeficiency virus type 1 non-B subtypes and antiretroviral drug-resistant strains in United States blood donors. *Transfusion* 2009; 49:125–33.
4. Stramer SL, Wend U, Candotti D, et al. Nucleic acid testing to detect HBV infection in blood donors. *N Engl J Med* 2011; 364:236–47.

5. Busch MP, Pilcher CD, Mastro TD, et al. Beyond detuning: 10 years of progress and new challenges in the development and application of assays for HIV incidence estimation. *AIDS* 2010; 24:2763–71.
6. Janssen RS, Satten GA, Stramer SL, et al. New testing strategy to detect early HIV-1 infection for use in incidence estimates and for clinical and prevention purposes. *JAMA* 1998; 280:42–8.
7. Machado DM, Delwart EL, Diaz RS, et al. Use of the sensitive/less-sensitive (detuned) ELISA strategy for targeting genetic analysis of HIV-1 to recently infected blood donors. *AIDS* 2002; 16:113–19.
8. Rawal BD, Degula A, Lebedeva L, et al. Development of a new less-sensitive enzyme immunoassay for detection of early HIV-1 infection. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003; 33:349–55.
9. Shafer RW, Hertogs K, Zolopa AR, et al. High degree of inter-laboratory reproducibility of human immunodeficiency virus type 1 protease and reverse transcriptase sequencing of plasma samples from heavily treated patients. *J Clin Microbiol* 2001; 39:1522–9.
10. Bernardin F, Tobler L, Walsh I, Williams JD, Busch M, Delwart E. Clearance of hepatitis C virus RNA from the peripheral blood mononuclear cells of blood donors who spontaneously or therapeutically control their plasma viremia. *Hepatology* 2008; 47:1446–52.
11. Shafer RW, Rhee SY, Pillay D, et al. HIV-1 protease and reverse transcriptase mutations for drug resistance surveillance. *AIDS* 2007; 21:215–23.
12. Gifford RJ, Liu TF, Rhee SY, et al. The calibrated population resistance tool: standardized genotypic estimation of transmitted HIV-1 drug resistance. *Bioinformatics* 2009; 25:1197–8.
13. Shafer RW, Jung DR, Betts BJ. Human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase and protease mutation search engine for queries. *Nat Med* 2000; 6:1290–2.
14. Rhee SY, Gonzales MJ, Kantor R, Betts BJ, Ravela J, Shafer RW. Human immunodeficiency virus reverse transcriptase and protease sequence database. *Nucleic Acids Res* 2003; 31:298–303.
15. de Oliveira T, Deforche K, Cassol S, et al. An automated genotyping system for analysis of HIV-1 and other microbial sequences. *Bioinformatics* 2005; 21:3797–800.
16. Alcantara LC, Cassol S, Libin P, et al. A standardized framework for accurate, high-throughput genotyping of recombinant and non-recombinant viral sequences. *Nucleic Acids Res* 2009; 37:W634–42.
17. Myers R, Clark K, Khan A, Kellam P, Tedder R. Genotyping hepatitis B virus from whole- and sub-genomic fragments using position-specific scoring matrices in HBV STAR. *J Gen Virol* 2006; 87:1459–64.
18. Gauthier M, Bonnard B, Arzac M, et al. Microarray for hepatitis B virus genotyping and detection of 994 mutations along the genome. *J Clin Microbiol* 2010; 48:4207–15.
19. Tran N, Berne R, Chann R, et al. European multicenter evaluation of high-density DNA probe arrays for detection of hepatitis B virus resistance mutations and identification of genotypes. *J Clin Microbiol* 2006; 44:2792–800.
20. Brennan CA, Yamaguchi J, Devare SG, Foster GA, Stramer SL. Expanded evaluation of blood donors in the United States for human immunodeficiency virus type 1 non-B subtypes and antiretroviral drug-resistant strains: 2005 through 2007. *Transfusion* 2010; 50:2707–12.
21. Delwart E, Kuhns MC, Busch MP. Surveillance of the genetic variation in incident HIV, HCV, and HBV infections in blood and plasma donors: implications for blood safety, diagnostics, treatment, and molecular epidemiology. *J Med Virol* 2006; 78(Suppl 1):S30–5.
22. Delwart EL, Orton S, Parekh B, Dobbs T, Clark K, Busch MP. Two percent of HIV-positive U.S. blood donors are infected with non-subtype B strains. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2003; 19:1065–70.
23. de Oliveira CF, Diaz RS, Machado DM, et al. Surveillance of HIV-1 genetic subtypes and diversity in the US blood supply. *Transfusion* 2000; 40:1399–406.
24. Thomson MM, Najera R. Travel and the introduction of human immunodeficiency virus type 1 non-B subtype genetic forms into Western countries. *Clin Infect Dis* 2001; 32:1732–7.

25. Achkar JM, Burda ST, Konings FA, et al. Infection with HIV type 1 group M non-B subtypes in individuals living in New York City. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2004; 36:835–44.
26. Lin HH, Gaschen BK, Collie M, et al. Genetic characterization of diverse HIV-1 strains in an immigrant population living in New York City. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006; 41:399–404.
27. Singer DE, Bautista CT, O'Connell RJ, et al. HIV infection among U.S. Army and Air Force military personnel: sociodemographic and genotyping analysis. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2010; 26:889–94.
28. Brodine SK, Starkey MJ, Shaffer RA, et al. Diverse HIV-1 subtypes and clinical, laboratory and behavioral factors in a recently infected US military cohort. *AIDS* 2003; 17:2521–7.
29. Turner D, Wainberg MA. HIV transmission and primary drug resistance. *AIDS Rev* 2006; 8:17–23.
30. Pillay D. Current patterns in the epidemiology of primary HIV drug resistance in North America and Europe. *Antivir Ther* 2004; 9:695–702.
31. Girardi E. Epidemiological aspects of transmitted HIV drug resistance. *Scand J Infect Dis Suppl* 2003; 106:17–20.
32. Wensing AM, Boucher CA. Worldwide transmission of drug-resistant HIV. *AIDS Rev* 2003; 5:140–55.
33. Simmonds P, Bukh J, Combet C, et al. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology* 2005; 42:962–73.
34. Hahn JA, Page-Shafer K, Lum PJ, et al. Hepatitis C virus seroconversion among young injection drug users: relationships and risks. *J Infect Dis* 2002; 186:1558–64.
35. Herring BL, Page-Shafer K, Tobler LH, Delwart EL. Frequent hepatitis C virus superinfection in injection drug users. *J Infect Dis* 2004; 190:1396–403.
36. Page K, Hahn JA, Evans J, et al. Acute hepatitis C virus infection in young adult injection drug users: a prospective study of incident infection, resolution, and reinfection. *J Infect Dis* 2009; 200:1216–26.
37. Alter MJ, Kruszon-Moran D, Nainan OV, et al. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994. *N Engl J Med* 1999; 341:556–62.
38. Telles Dias P, Hahn JA, Delwart E, et al. Temporal changes in HCV genotype distribution in three different high risk populations in San Francisco, California. *BMC Infect Dis* 2011; 11:208.
39. Kidd-Ljunggren K, Miyakawa Y, Kidd AH. Genetic variability in hepatitis B viruses. *J Gen Virol* 2002; 83:1267–80.
40. Protzer-Knolle U, Naumann U, Bartenschlager R, et al. Hepatitis B virus with antigenically altered hepatitis B surface antigen is selected by high-dose hepatitis B immune globulin after liver transplantation. *Hepatology* 1998; 27:254–63.
41. Cooreman MP, Leroux-Roels G, Paulij WP. Vaccine- and hepatitis B immune globulin-induced escape mutations of hepatitis B virus surface antigen. *J Biomed Sci* 2001; 8:237–47.
42. Song BC, Kim SH, Kim H, et al. Prevalence of naturally occurring surface antigen variants of hepatitis B virus in Korean patients infected chronically. *J Med Virol* 2005; 76:194–202.
43. Echevarria JM, Avellon A. Hepatitis B virus genetic diversity. *J Med Virol* 2006; 78(Suppl 1):S36–42.
44. Grant RM, Hecht FM, Warmerdam M, et al. Time trends in primary HIV-1 drug resistance among recently infected persons. *JAMA* 2002; 288:181–8.
45. Weinstock HS, Zaidi I, Heineke W, et al. The epidemiology of antiretroviral drug resistance among drug-naïve HIV-1-infected persons in 10 US cities. *J Infect Dis* 2004; 189:2174–80.
46. Brennan CA, Bodelle P, Coffey R, et al. HIV global surveillance: foundation for retroviral discovery and assay development. *J Med Virol* 2006; 78(Suppl 1):S24–9.
47. Peeters M, Aghokeng AF, Delaporte E. Genetic diversity among human immunodeficiency virus-1 non-B subtypes in viral load and drug resistance assays. *Clin Microbiol Infect* 2010; 16:1525–31.
48. Jongerius JM, Wester M, Cuyper HT, et al. New hepatitis B virus mutant form in a blood donor that is undetectable in several

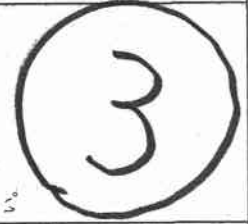
hepatitis B surface antigen screening assays. Transfusion 1998; 38: 56-9.
 49. Avellon A, Echevarria JM, Weber B, et al. European collaborative evaluation of the Enzygnost HBsAg 6.0 assay: performance on hepatitis B virus surface antigen variants. J Med Virol 2011; 83:95-100.

50. Scheiblaue H, El-Nageh M, Diaz S, et al. Performance evaluation of 70 hepatitis B virus (HBV) surface antigen (HBsAg) assays from around the world by a geographically diverse panel with an array of HBV genotypes and HBsAg subtypes. Vox Sang 2010; 98: 403-14.

医薬品
 医薬部外品
 化粧品
 研究報告 調査報告書

別紙様式第 2-1
 番号 12

識別番号・報告回数	報告日	第一報入手日	新医薬品等の区分	厚生労働省処理欄
①② 乾燥抗 HBs 人免疫グロブリン ③ ポリエチレングリコール処理抗 HBs 人免疫グロブリン	2012年2月21日	2012年2月21日	該当なし 公衆国 アメリカ	
一般的名称	研究報告の 公表状況	TRANSFUSION 2012 : Article first published online: 17 FEB		
販売名 (企業名)				
研究報告の概要	報告企業の意見	今後の対応	使用上の注意記載状況・ その他参考事項等	
<p>パルボウイルス B19 (B19V) は、ヒト血漿の一般的な感染性物質である。3つの B19V 遺伝子型は、これらの DNA 配列に基づいて定義されている。予期外の配列変動性のため、遺伝子型 3 DNA の信頼性の高い検出には問題があることが判明した。B19V 遺伝子型 3 は主に西アメリカで見つかるが、最近では北米の献血者からの血漿中に検出された。血漿由来医薬品の安全性は、B19V に関連しては高力血漿の非除と特定の製造工程でのウイルススクリアランスとの組み合わせに依存している。B19V 不活化の研究は実施が難しく、遺伝子型 3 の不活化はまだ研究されていない。ヒト血清アルブミンの低温滅菌と低 pH でのインキュベーションによる B19V 遺伝子型 1 と 3 の不活化について、感染性ウイルス粒子を細胞培養法を用いて研究した。低温滅菌と低 pH 処理は、B19V 遺伝子型 1 と 3 の不活化において同等の効果があつた。中和実験では、北米や欧州起源のプールした免疫グロブリンは、両方の遺伝子型に起因する疾患の治療に等しく効果的でありそうなることが示された。</p>	<p>本報告は本剤の安全性に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>	<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>	<p>使用上の注意記載状況・ その他参考事項等</p> <p>1. 慎重投与 (3) 溶血性・失血性貧血の患者〔ヒトパルボウイルス B19 の感染を起す可能性を否定できない。感染した場合には、発熱と急激な貧血を伴う重篤な全身症状を起すことがある。〕 (4) 免疫不全患者・免疫抑制状態の患者〔ヒトパルボウイルス B19 の感染を起す可能性を否定できない。感染した場合には、持続性の貧血を起すことがある。〕</p> <p>2. 重要な基本的注意 (1) 略 1) 血漿分画製剤の現在の製造工程では、ヒトパルボウイルス B19 等のウイルスを完全に不活化・除去することが困難であるため、本剤の投与によりその感染の可能性を否定できないので、投与後の経過を十分に観察すること。 6. 妊婦、産婦、授乳婦等への投与 妊婦又は妊娠している可能性のある婦人には、治療上の有益性が危険性を上回ると判断される場合にのみ投与すること。〔妊娠中の投与に関する安全性は確立していない。本剤の投与によりヒトパルボウイルス B19 の感染の可能性を否定できない。感染した場合には胎児への障害（流産、胎児水腫、胎児死亡）が起る可能性がある。〕</p>	



Inactivation and neutralization of parvovirus B19 Genotype 3

Johannes Blümel, Lori A. Rinckel, Douglas C. Lee, Nathan J. Roth, and Sally A. Baylis

BACKGROUND: Parvovirus B19 (B19V) is a common contaminant of human plasma donations. Three B19V genotypes have been defined based on their DNA sequence. Reliable detection of Genotype 3 DNA has proved problematic because of unexpected sequence variability. B19V Genotype 3 is found primarily in West Africa, but was recently detected in plasma from a North American donor. The safety of plasma-derived medicinal products, with respect to B19V, relies on exclusion of high-titer donations, combined with virus clearance at specific manufacturing steps. Studies on inactivation of B19V are difficult to perform and inactivation of Genotype 3 has not yet been investigated.

STUDY DESIGN AND METHODS: Inactivation of B19V Genotypes 3 and 1 by pasteurization of human serum albumin and incubation at low pH was studied using a cell culture assay for infectious virus particles. Infected cells were detected by reverse transcription-polymerase chain reaction analysis of virus capsid mRNA. Neutralization of B19V Genotype 3 was investigated using human immunoglobulin preparations.

RESULTS: Genotypes 1 and 3 displayed comparable inactivation kinetics during pasteurization of albumin at 56°C, as well as by incubation at various low-pH conditions (pH 4.2 at 37°C and pH 4.5 at 23°C, respectively) used in immunoglobulin manufacturing. Both Genotypes were readily neutralized by pooled immunoglobulin preparations of North American or European origin.

CONCLUSION: Pasteurization and low-pH treatment were equally effective in inactivating B19V Genotypes 1 and 3. Neutralization experiments indicated that pooled immunoglobulin of North American or European origin is likely to be equally effective in treatment of disease induced by both genotypes.

Parvovirus B19 (B19V) is a frequent contaminant of human blood and plasma donations and has been transmitted by plasma-derived medicinal products.^{1,2} In healthy immunocompetent individuals, B19V infections are mostly asymptomatic or cause erythema infectiosum. Infection occasionally leads to arthralgia or arthritis. B19V replication is strictly dependent on dividing erythroid progenitor cells. Therefore, B19V infection of individuals with underlying hematologic disorders may show transient aplastic crisis. Immunocompromised patients may be infected persistently with the manifestation of pure red blood cell aplasia and chronic anemia. Pregnant women are at special risk, since B19V infection may lead to hydrops fetalis or fetal death.

Three genotypes of B19V have been defined based on isolates having greater than 10% nucleotide divergence.³ Genotype 1 is the most prevalent type currently circulating worldwide and is represented by the prototype strain Au (GenBank Accession Number M13178).⁴ It has been estimated that Genotype 2 viruses circulated widely in Europe half a century ago, before they were largely replaced by Genotype 1.⁵ Although rare, Genotype 2 B19V is found sporadically in plasma donations from both Europe and North America.⁶⁻⁹ Genotype 3 has been found predominantly in West Africa (Ghana) and less frequently in France or other regions.^{3,5} The high diversity of Genotype 3 viruses could be indicative of a longer evolutionary history, probably in Africa. Recent studies found Genotype 3 in samples from Europe and Asia or Brazil and indicate that Genotype 3 may be more widely distributed outside

ABBREVIATIONS: B19V = parvovirus B19; CCID₅₀ = 50% cell culture infectious dose.

From the Paul-Ehrlich-Institut, Langen, Germany; Grifols Therapeutics, Inc., Raleigh, North Carolina; and Grifols Therapeutics, Inc., Research Triangle Park, North Carolina.

Address reprint requests to: Johannes Blümel, Paul-Ehrlich-Institut, Paul-Ehrlich-Strasse 51-59, 63225 Langen, Germany; e-mail: Johannes.Blumel@pei.de.

No financial support was received for this work.

Received for publication November 30, 2011; revision received December 16, 2011, and accepted December 17, 2011.

doi: 10.1111/j.1537-2995.2012.03573.x

TRANSFUSION **,**,**,**

Africa than previously believed.^{10,11} Plasma donations containing high titers of a Subtype 3a B19V were recently identified from a single donor in the United States.¹² The pathogenic properties of B19V appear to be the same, regardless of the genotype.³ However, reliable detection of Genotype 3 B19V by nucleic acid amplification techniques (NAT) using commercially available assays has proved difficult due to the sequence variability of this genotype.¹³ The risk of plasma derivatives with respect to B19V is currently minimized by a combination of donor selection, NAT screening for highly viremic plasma donations, and manufacturing steps which result in B19V reduction such as virus filtration, heat treatments, or incubation at low pH—the latter employed during the manufacture of some immunoglobulin products.¹⁴⁻²¹ Effective inactivation of B19V Genotype 1 by pasteurization of albumin has been demonstrated.¹⁵ The B19V capsid is destroyed by heating or low-pH incubation, whereas the B19V DNA remains undamaged and is expelled from opened capsids.^{15,21,22}

Recently, differential inactivation kinetics during pasteurization of human serum albumin (HSA) has been reported using different laboratory variants of hepatitis A virus (HAV).²³ Regarding the sequence variability of the B19V virus capsids, we wondered whether the phenotypic susceptibility of B19V Genotype 3 to virus inactivation was different from that of Genotype 1. In addition, we addressed the question whether the variability of Genotype 3 could result in escape from neutralization by immunoglobulin preparations from pooled plasma sourced from North America or Europe where this genotype is only very rarely detected. Using a cell culture system for detection of infectious B19V, we investigated the inactivation kinetics of B19V Genotypes 1 and 3, by pasteurization of albumin and by different low-pH treatments. Neutralization of B19V infectivity was tested using immunoglobulin preparations, manufactured by identical procedures, but prepared from plasma sourced from European or North American donors.

MATERIALS AND METHODS

Viruses and cells

Highly viremic plasma donations were used as sources of infectious B19V. A German blood donation, provided by W.K. Roth (German Red Cross, Hessen), was the source of the Genotype 1 B19V strain, termed DRK1, and has a DNA concentration of 11.6 log IU/mL. The nucleotide sequence of the DRK1 capsid-encoding region has been determined (GenBank Accession Number HQ664953). The Genotype 3 B19V strain, termed P1 (GenBank Accession Number FJ265736) was obtained from an American donor and sequence analysis confirmed that the virus belongs to Subtype 3a.¹² KU812Ep6 cells were provided by E. Miyagawa (Fujirebio, Inc., Tokyo, Japan).²⁴ The cells were propagated at 37°C, 5% CO₂ in RPMI supplemented with

10% fetal calf serum (Sigma, St Louis, MO) and 5 IU/mL recombinant erythropoietin (NeoRecormon, Roche, Welwyn Garden City, UK).

Pasteurization

Commercial 5% HSA was heated to 56.5°C in a thermo-block (Model 5436, Eppendorf, Hamburg, Germany). The temperature was measured throughout the experiment by monitoring an unspiked albumin sample incubated in parallel using a calibrated thermometer. One milliliter of heated albumin was spiked at a ratio of 1 in 20 with virus-containing plasma; 200- μ L samples were withdrawn after 1, 5, 10, 30, and 60 minutes of heat treatment. Samples were immediately placed on ice and titrated on KU812Ep6 cells.

Low-pH treatment

Experiments were performed as described previously.²¹ Virus was spiked at a ratio of 1 in 10 into phosphate-buffered saline (PBS). The pH was then adjusted with 1 mol/L HCl to the target pH and the sample incubated at the appropriate temperature for the specified period of time. Samples were withdrawn and immediately neutralized with 1 mol/L NaOH, buffered with phosphate buffer (100 mmol/L, pH 7.4), and subjected to virus titration.

Controls

Cytotoxicity controls

Cells were seeded into 24-well plates. One-hundred-microliter samples of a 10-fold dilution series of albumin were inoculated into each well and, after 7 days, cells were visually examined for cytotoxic effects (alteration of cell shape) using a light microscope.

Interference controls

A 10-fold dilution series of B19V in undiluted test matrix was prepared and 100 μ L from each dilution was inoculated into cell cultures and examined for virus. Additionally, a 10-fold dilution series of B19V in 1-in-10-diluted test matrix was prepared and 100 μ L from each dilution was inoculated into cell cultures and examined for virus.

Virus control

In each virus experiment, the titer of virus stock was verified by titration on KU812Ep6 cells.

Bench controls

In parallel to each inactivation experiment, the test matrix was spiked at room temperature (heat inactivation) or at neutral pH (low pH treatment). This material was held at

room temperature and titrated at the beginning and the end of the inactivation process.

Virus titration

A 10-fold dilution series was prepared using RPMI as diluent. One-hundred microliters from each dilution was inoculated onto 8×10^5 cells and incubated for 3 to 5 days. Cells were washed with PBS and analyzed for spliced mRNA by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). For titration using the mRNA assay, the infectious titer was determined by the endpoint dilution method and expressed as 50% cell culture infectious dose (CCID₅₀)/mL. Three mRNA assays were performed in parallel for each dilution step and the virus titer was calculated according to the maximum likelihood method. In samples where no virus was detected, the detection limit of the assay was calculated according to the Poisson distribution using the equation

$$c = -\ln p/v,$$

where $1-p$ is the 95% probability that the aliquot is free of infectious virus ($p = 0.05$), v is the test volume, and c is the virus concentration.²⁵ Messenger RNA was extracted using the mRNA capture kit (Roche, Mannheim, Germany). For detection of spliced mRNAs encoding for capsid proteins (VP), mRNA was dissolved in 50 μ L of RT-PCR mix containing 600 nmol/L Primer XPP1 (5'-TTTCCTGGACT TTCTTGCTGT, Nucleotides 365-385), 600 nmol/L Primer TP2 (5'-TGGTCTGCCAAGGTGTGTAG, Nucleotides 2171-2151), 200 nmol/L Probe "B19-Sonde-1" (FAM(6-carboxy-fluorescein)-CCGCGCTCTAGTACGCCCATCCT-TAMRA (6-carboxy-tetramethyl-rhodamine), Nucleotides 2050-2072), 1 mmol/L dNTPs, 2 μ L of PCR enzymes, and 1 \times reaction buffer from a one-step RT-PCR kit (Qiagen, Hilden, Germany). For detection of spliced Genotype 3 mRNA, Primer XPP1 was replaced by Primer XPP5 (5'-CTTGCTGTCTTTGCTGCTA), Primer TP2 was replaced by Primer TP7 (5'-CTTCGAGGAACTGGCTTC, Nucleotides 2123-2102), and Probe "B19 Sonde 2" was FAM(6-carboxy-fluorescein)-AACCCCGCTCTAGTAC-TAMRA (Nucleotides 2046 to 2063). All nucleotide position numbers of primers refer to strain Au.⁴ RT was carried out for 30 minutes at 50°C and stopped by incubation at 95°C for 15 minutes in a PCR system cycler (GeneAmp 9700, Applied Biosystems, Weiterstadt, Germany). Thereafter, five PCR cycles (15 sec at 94°C, 15 sec at 60°C, 15 sec at 72°C) were performed followed by incubation for 10 minutes at 72°C. The reaction mixture was transferred to a sequence detection system (ABI Prism 7700, Applied Biosystems). After 2 minutes at 50°C and 10 minutes at 95°C, 45 cycles (15 sec at 95°C and 30 sec at 60°C) were performed. In each run, the infectivity (mRNA) from a sample of known titer was determined by the endpoint dilution method (two wells per dilution) and calculated

as 50% mRNA-inducing dose (mRNA₅₀)/mL using the maximum likelihood method resulting in an absolute quantification of the mRNA₅₀/mL titer with a variation of ± 0.8 log. Furthermore, this sample was used to generate a standard curve (two to three wells per dilution) for relative quantification of virus mRNA. One well per dilution was analyzed for mRNA and diluted samples with C_T values falling within the linear range of the standard curve were used for calculation of the titer using the sequence detection system software (ABI Prism 7700, Applied Biosystems).

Neutralization assay

Fifty microliters of virus-containing plasma was mixed with 50 μ L of EU-licensed commercial normal immunoglobulin G (IgG) preparation from a twofold dilution series in PBS. The 100- μ L mixture of virus and serum was incubated 2 hours at 37°C for neutralization. Thereafter, the whole sample was inoculated onto KU812Ep6 cells for titration of infectious virus by mRNA detection as described above.

RESULTS

Characterization of virus isolates

Inactivation of B19V occurs by damaging the virus capsid shell. Therefore, we determined the amino acid sequence of the virus capsids. The nucleotide sequence of Genotype 1 strain termed "DRK-1" was determined by direct sequencing of DNA amplified by PCR (GenBank Accession Number HQ664953). The sequence of the Subtype 3a strain P1 (GenBank Accession Number FJ265736) has been described previously.¹² Figure 1 shows the different amino acids located in the virus capsid proteins. The capsid of B19V consists of two proteins VP1 and VP2, respectively, which are translated from overlapping open reading frames. VP2 forms 95% of the virus capsid. VP1 contains an N-terminal 228-amino-acid "unique region." Differences in 29 amino acids were identified between Genotype 1 and Genotype 3. These amino acid positions clustered preferentially (i.e., 18 of the 29 changes) in the VP1 unique region.

The plasma DNA concentrations of both Genotype samples were 11.9 log IU/mL. The infectious titers were 7.9 ± 0.4 and 8.5 ± 0.4 log CCID₅₀ for Genotypes 1 and 3, respectively, as determined by quadruplicate assays (SD indicated) using mRNA detection.

Inactivation kinetics during pasteurization

Heat treatment in aqueous solution of albumin and other plasma proteins is performed at 60°C for 10 hours (pasteurization). Immediate inactivation of B19V genotype 1 has previously been demonstrated under these standard

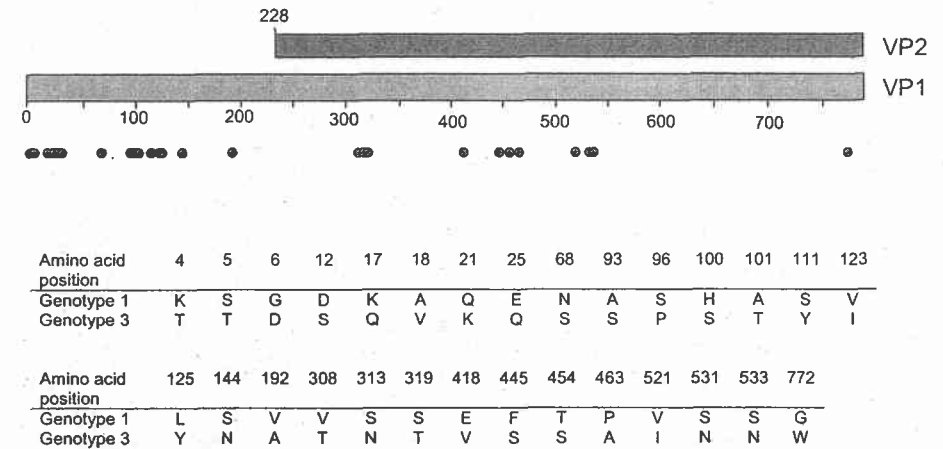


Fig. 1. Differences in amino acid composition of B19V capsid proteins. Differing amino acids of the virus capsid proteins of Genotype 1 (strain DRK1) or Genotype 3 (strain P1) are presented. The location of variant amino acid positions (indicated as dots) with respect to the VP1 and VP2 open reading frames (indicated as bars) is shown.

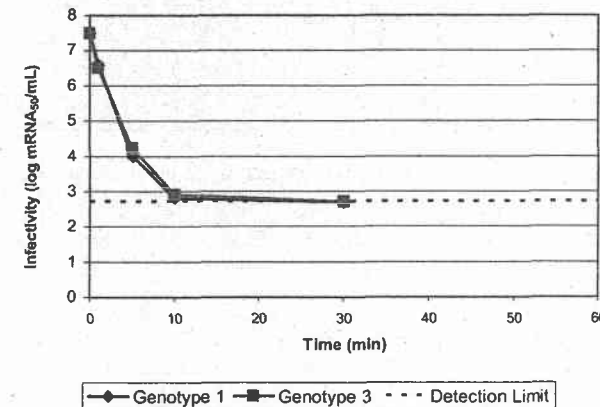


Fig. 2. Inactivation of B19V Genotypes 1 and 3 by heat treatment. Human albumin 5% was heated to 56.5°C and spiked 1 in 20 with B19V Genotype 1 or 3, respectively. Incubation at 56.5°C was continued and infectious titer was determined at various time points by titration of B19V on KU812Ep6 cells and analysis of B19V-specific mRNA. The starting point of inactivation kinetics (0 min) represents the infectious titer from a sample spiked at room temperature.

pasteurization conditions.¹⁵ Inactivation studies of Genotypes 1 and 3, described herein, were carried out at lower temperature (56.5°C). Reducing the temperature of the heat treatment step slowed the rates of virus inactivation

sufficiently to enable a more accurate and precise comparison of the inactivation kinetics of the different virus genotypes. As shown in Fig. 2, both genotypes were inactivated below the detection limit in less than 30 minutes. There was no significant difference in inactivation kinetics of the two virus genotypes.

Inactivation kinetics at low-pH treatment

During the manufacture of several immunoglobulin products, an enzymatic treatment may be performed at pH 4 and 37°C. Manufacture of other products includes incubation of the final product at pH 4 and room temperature for several weeks. Both procedures have been shown to be effective for inactivation of enveloped viruses and specific nonenveloped viruses. Inactivation of B19V at pH 4, 37°C was previously demonstrated.²¹ In the studies described herein, we investigated inactivation kinetics of B19V Genotypes 1 and 3 under two different conditions (pH 4 at 37°C and pH 4.5 at 23°C). Ethanol (2% final concentration) was added to the samples incubated at pH 4 at 37°C to mimic typical conditions of enzymatic low-pH steps

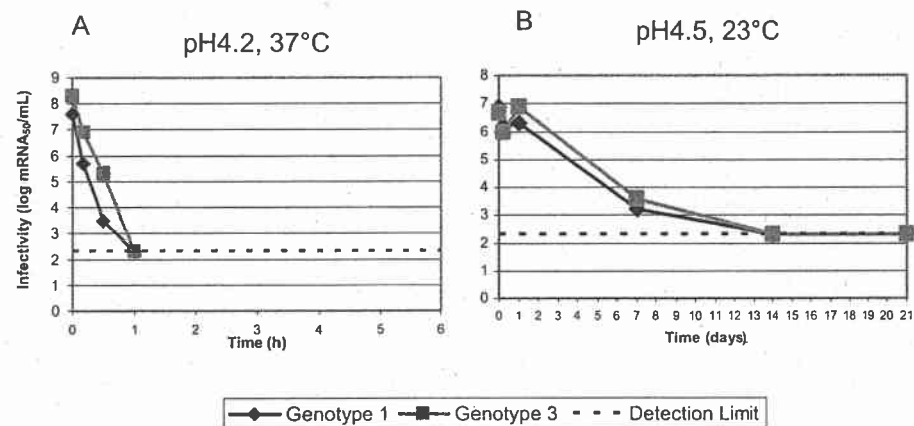


Fig. 3. Inactivation of B19V Genotypes 1 and 3 by low-pH treatment. B19V Genotypes 1 or 3 were spiked into test matrices (5% albumin, 2% ethanol, pH 4.2 [A] or PBS pH 4.5 [B]) and incubation was continued for 6 hours at 37°C (A) or 21 days at 23°C (B), respectively. Infectious titer was determined at several time points by titration on KU812Ep6 cells and analysis of B19V-specific mRNA. The starting point of inactivation kinetics represents the infectious titer tested immediately after spiking the low pH test matrix.

applied during immunoglobulin fractionation. Figures 3A and 3B show that both conditions for low-pH treatment were effective for inactivation of B19V. There was no significant difference in the inactivation kinetics of either genotype. Control samples, diluted in PBS (pH 7.4) and held at 37°C for a period of 6 hours, showed no loss of B19 infectivity. However, in the case of the samples maintained at 23°C for 3 weeks, it was observed that infectious titers of B19V controls diluted in PBS (pH 7.4) declined during the incubation period (4.2 log/mL for Genotype 1 and 3.0 log/mL Genotype 3, respectively). The pH of the controls remained stable throughout the incubation period.

Neutralization of B19V Genotypes 1 and 3

The amino acid variations of Genotype 3 virus capsids are located mainly in the N-terminal unique region of VP1 (Fig. 1). It has been reported that this more variable region contains antibody-binding epitopes and that the majority of virus-neutralizing antibodies that confer lifelong protection against reinfection with B19V are directed against the VP1-unique region.²⁶ So far, B19V Genotype 3 has only occasionally been described in regions outside Africa, and it is reasonable to assume that antibodies present in pools of plasma collected in Europe or the United States mainly represent antibodies from Genotype 1 infections.

Consequently, experiments were performed to determine whether B19V Genotype 3 would be neutralized by

antibody preparations produced from plasma collected in either Europe (i.e., Austria, Germany, and the Czech Republic) or the United States. Two commercial normal immunoglobulin preparations for human use were used. These immunoglobulins were produced by the same manufacturing process including cold ethanol fractionation of plasma sourced either in Europe or in North America. As shown in Fig. 4, there was no difference in the neutralization curves of the two genotypes using the antibody preparations of either European or North American origin. Both genotypes were completely neutralized below the detection limit using immunoglobulin dilutions up to 1 in 80. Only marginally better neutralization of Genotype 1 was observed, that is, at a dilution point of 1 in 160.

DISCUSSION

The risk for B19V transmission via plasma-derived medicinal products is currently minimized by a combination of donor selection, plasma screening, and manufacturing steps that facilitate virus clearance. In individual plasma donations, virus titers may be extremely high (more than 10^{12} IU B19V DNA/mL). These high levels of virus can overload the virus clearance steps in the manufacturing process, resulting in transmission cases with, for example, coagulation factor concentrates.²⁷ B19V infections are ubiquitous and virus-containing donations, as

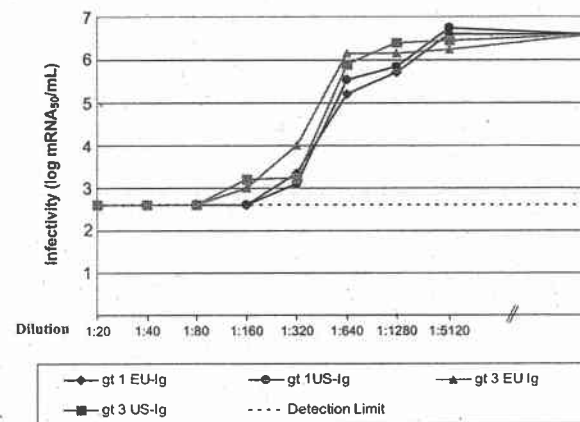


Fig. 4. Neutralization of B19V Genotypes (gt) 1 and 3. Neutralization reactions were set up by mixing 50 μ L of dilutions of Genotype 1 or Genotype 3 at a DNA concentration of 9.9 log IU/mL with 50 μ L of commercial IgG preparation from European plasma pools (EU-Ig) or American plasma pools (US-Ig). The mixture was incubated at 37°C for 2 hours. Thereafter, the samples were inoculated onto KU812Ep for titration of infectious virus by analysis of B19V-specific mRNA.

analyzed by NAT methods, have been reported at frequencies varying from 1 in 800 to 1 in 8000. It is currently not practical to exclude all B19V-containing plasma donations. However, it is feasible to identify and exclude highly viremic donations from the plasma manufacturing pools. The Plasma Therapeutic Protein Association introduced in 2002 a voluntary limit of not more than 10^5 genomes/mL in a production pool and FDA recommended a limit of not more than 10^4 IU B19 DNA/mL.²⁸ In Europe, the 10^4 IU/mL limit is prescribed in the European Pharmacopoeia for solvent/detergent plasma and for anti-D immunoglobulin preparations used prophylactically in pregnant women for the prevention of Rhesus disease. Genotype 3 has been predominantly found in West Africa.⁹ Genotypes 2 and 3, however, may be occasionally found in Europe.^{3,10,29-31} Highly viremic plasma donations have been identified in Europe and the United States.^{6,8,12} Genotype 2 virus sequences have also been identified in coagulation factor concentrates.³² The variant genotypes may not be reliably detected or correctly quantified by some of the current PCR assays.^{7,33}

Manufacturing steps for virus inactivation and removal are important in ensuring the virus safety of plasma-derived medicinal products. The reduction capacity of such steps is validated by laboratory experiments where cell culture-adapted virus strains are spiked into process intermediates and these intermediates are fur-

ther processed through a scaled-down version of the respective manufacturing process step. There has been always a theoretical concern as to what extent such model virus strains reflect actual virus particles from plasma donations. Recently, Farcet and coworkers²³ reported different inactivation kinetics of variants of cell culture-adapted HAV strains during pasteurization of HSA. These variants were derived from a single field isolate, indicating that mutations being selected during cell culture passage might affect the thermostability of virus particles. In this report, highly viremic plasma donations containing various strains of B19V were used as the source of the spiking agent, thereby excluding the possibility of such mutations. Similar inactivation kinetics of B19V from different plasma donations containing B19V Genotype 1 were demonstrated in earlier studies suggesting that natural variants do not contain mutations affecting thermal stability of virus particles.¹⁵ In addition, inactivation of Genotype 2 strains was also similar to Genotype 1 isolates.^{6,20}

Inactivation of virus particles at 60°C or pH 4 occurs by externalization of virus DNA from capsids as the result of a conformational change of capsids leading to externalization from capsids in the N-terminus of the VP1 protein.²² Although many of the amino acid variations between B19V genotypes cluster in the N-terminal VP1 regions, such variations do not affect stability of virus capsids.^{6,22} It has been speculated that the neutralizing immune response is mainly elicited by this region.³⁴

Immunoglobulin preparations have been successfully used for treatment of persistent infections with B19V.³⁵ Considering the very rare detection of Genotypes 2 and 3 in Europe and the United States, it is reasonable to assume that most B19V-specific antibodies in immunoglobulin preparations from pooled plasma have been derived from infections with Genotype 1. Indeed, NAT analysis has shown that plasma fractionation pools, prepared from European and North American plasma, contain predominantly Genotype 1 B19V (L.A. Rinckel and T.M. Gierman, unpublished observations).³⁶ This has been confirmed by direct sequence analysis of B19V from numerous plasma pools (J. Blümel, unpublished observations). Therefore, we considered whether such preparations would be effective in neutralizing B19V Genotype 3 as well as Genotype 1. The results of these studies clearly show that immunoglobulins prepared from European or North American-sourced plasma were equally effective in

neutralizing Genotype 3. This indicated that such preparations should be effective in treatment of chronic infections caused by B19V Genotype 3.

In summary, the results from this study confirm the reliability of current virus inactivation steps and thus the safety of immunoglobulin preparations against the different B19V genotypes.

ACKNOWLEDGMENTS

We are indebted to E. Miyagawa (Fujirebio, Inc.) for providing KU812Ep6 cells that enabled us to perform this work. We thank W.K. Roth (German Red Cross, Hessen) for providing viremic plasma donations. The technical assistance of R. Kleiber is acknowledged.

CONFLICT OF INTEREST

DCL and NR are employees of Grifols Therapeutics, Inc., Research Triangle Park, NC. JB, SAB, and LR declare no conflicts of interest.

REFERENCES

- Blümel J, Burger R, Drosten C, Gröner A, Gürtler L, Heiden M, Hildebrandt M, Jansen B, Montag-Lessing T, Offergeld R, Pauli G, Seitz R, Schlenkrich U, Schottstedt V, Strobel J, Willkommen H, von König CH. Parvovirus B19—revised. *Transfus Med Hemother* 2010;37:339-50.
- Laub R, Strengers P. Parvoviruses and blood products. *Pathol Biol* 2002;50:339-48.
- Servant A, Laperche S, Lallemand F, Marinho V, De Saint Maur G, Meritet JF, Garbarg-Chenon A. Genetic diversity within human erythroviruses: identification of three genotypes. *J Virol* 2002;76:9124-34.
- Shade RO, Blundell MC, Cotmore SF, Tattersall P, Astell CR. Nucleotide sequence and genome organization of human parvovirus B19 isolated from the serum of a child during aplastic crisis. *J Virol* 1986;58:921-36.
- Norja P, Hokynar K, Aaltonen LM, Chen R, Ranki A, Partio EK, Kiviluoto O, Davidkin I, Leivo T, Eis-Hübinger AM, Schneider B, Fischer HP, Tolba R, Vapalahti O, Vaheeri A, Söderlund-Venermo M, Hedman K. Bioprotfolio: lifelong persistence of variant and prototypic erythrovirus DNA genomes in human tissue. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103:7450-3.
- Blümel J, Eis-Hübinger AM, Stühler A, Bönsch C, Gessner M, Löwer J. Characterization of parvovirus B19 Genotype 2 in KU812Ep6 cells. *J Virol* 2005;79:4197-206.
- Koppelman MH, Rood IG, Fryer JF, Baylis SA, Cuijpers HT. Parvovirus B19 Genotype 1 and 2 detection with real-time polymerase chain reaction assays. *Vox Sang* 2007;93:208-15.
- Baylis SA. Standardization of nucleic acid amplification technique (NAT)-based assays for different genotypes of parvovirus B19: a meeting summary. *Vox Sang* 2008;94:74-80.
- Candotti D, Etiz N, Parsyan A, Allain JP. Identification and characterization of persistent human erythrovirus infection in blood donor samples. *J Virol* 2004;78:12169-78.
- Hübschen JM, Mihneva Z, Mentis AF, Schneider F, Aboudy Y, Grossman T, Rudich H, Kasymbekova K, Sarv I, Nedeljkovic J, Tahita MC, Tarnagda Z, Ouedraogo JB, Gerasimova AG, Moskaleva TN, Tikhonova NT, Chitadze N, Forbi JC, Faneye AO, Otegbayo JA, Charpentier E, Muller CP. Phylogenetic analysis of human parvovirus b19 sequences from eleven different countries confirms the predominance of Genotype 1 and suggests the spread of Genotype 3b. *J Clin Microbiol* 2009;47:3735-8.
- Keller LW, Barbosa ML, Melo FL, Pereira LM, David-Neto E, Lanhez LE, Durigon EL. Phylogenetic analysis of a near-full-length sequence of an erythrovirus Genotype 3 strain isolated in Brazil. *Arch Virol* 2009;154:1685-7.
- Rinckel LA, Buno BR, Giernan TM, Lee DC. Discovery and analysis of a novel parvovirus B19 Genotype 3 isolate in the United States. *Transfusion* 2009;49:1488-92.
- Baylis SA, Buchheit KH. A proficiency testing study to evaluate laboratory performance for the detection of different genotypes of parvovirus B19. *Vox Sang* 2009;97:13-20.
- Berting A, Modrof J, Unger U, Gessner M, Klotz A, Poelsler G, Kreil TR. Inactivation of parvovirus B19 during STIM-4 vapor heat treatment of three coagulation factor concentrates. *Transfusion* 2008;48:1220-6.
- Blümel J, Schmidt I, Willkommen H, Löwer J. Inactivation of parvovirus B19 during pasteurization of human serum albumin. *Transfusion* 2002;42:1011-8.
- Blümel J, Stühler A, Dichtelmüller H. Kinetics of inactivating human parvovirus B19 and porcine parvovirus by dry-heat treatment. *Transfusion* 2008;48:790-1.
- Hattori S, Yunoki M, Tsujikawa M, Urayama T, Tachibana Y, Yamamoto I, Yamamoto S, Ikuta K. Variability of parvovirus B19 to inactivation by liquid heating in plasma products. *Vox Sang* 2007;92:121-4.
- Roberts PL, El Hana C, Saldana J. Inactivation of parvovirus B19 and model viruses in factor VIII by dry heat treatment at 80 degrees C. *Transfusion* 2006;46:1648-9.
- Yunoki M, Tsujikawa M, Urayama T, Sasaki Y, Morita M, Tanaka H, Hattori S, Takechi K, Ikuta K. Heat sensitivity of human parvovirus B19. *Vox Sang* 2003;84:164-9.
- Tsujikawa M, Nishigaki H, Yoshikawa M, Furuki R, Takahashi K, Adan-Kubo J, Shimamura Y, Urayama T, Hattori S, Sakai K, Yunoki M, Ikuta K. Variability of parvovirus B19 Genotype 2 in plasma products with different compositions in the inactivation sensitivity by liquid-heating. *Vox Sang* 2012;102:93-9.
- Boschetti N, Niederhauser I, Kempf C, Stühler A, Löwer J, Blümel J. Different susceptibility of B19 virus and mlce minute virus to low pH treatment. *Transfusion* 2004;44:1079-86.
- Mani B, Gerber M, Lieby P, Boschetti N, Kempf C, Ros C. Molecular mechanism underlying B19 virus inactivation and comparison to other parvoviruses. *Transfusion* 2007;47:1765-74.
- Farcet MR, Kindermann J, Modrof J, Kreil TR. Inactivation of hepatitis A variants during heat treatment (pasteurization) of human serum albumin. *Transfusion* 2012;52:181-7.
- Miyagawa E, Yoshida T, Takahashi H, Yamaguchi K, Nagano T, Kiriyama Y, Okochi K, Sato H. Infection of the erythroid cell line, KU812Ep6 with human parvovirus B19 and its application to titration of B19 infectivity. *J Virol Methods* 1999;83:45-54.
- Willkommen H, Löwer J. Theoretical considerations on viral inactivation or elimination. *Dev Biol Stand* 1993;81:109-16.
- Modrow S, Dorsch S. Antibody responses in parvovirus B19 infected patients. *Pathol Biol* 2002;50:326-31.
- Blümel J, Schmidt I, Effenberger W, Seitz H, Willkommen H, Brackmann H, Löwer J, Eis-Hübinger AM. Parvovirus B19 transmission by heat-treated clotting factor concentrates. *Transfusion* 2002;42:1473-81.
- US Food and Drug Administration. Guidance for industry: nucleic acid testing (NAT) to reduce the possible risk of human parvovirus B19 transmission by plasma-derived products. 2009. [cited 2012 Feb 3]. Available from: URL: <http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/Blood/ucm071592.htm>
- Cohen BJ, Gandhi J, Clewley JP. Genetic variants of parvovirus B19 identified in the United Kingdom: implications for diagnostic testing. *J Clin Virol* 2006;36:152-5.
- Liefeldt L, Plentz A, Klempa B, Kershaw O, Endres AS, Raab U, Neumayer HH, Meisel H, Modrow S. Recurrent high level parvovirus B19/Genotype 2 viremia in a renal transplant recipient analyzed by real-time PCR for simultaneous detection of Genotypes 1 to 3. *J Med Virol* 2005;75:161-9.
- Grabarczyk P, Kalińska A, Kara M, Wiecek R, Ejduk A, Sulkowska E, Gołębowski-Staroszczyk S, Matysiak M, Baylis SA, Brojer E. Identification and characterization of acute infection with parvovirus B19 Genotype 2 in immunocompromised patients in Poland. *J Med Virol* 2011;83:142-9.
- Schneider B, Becker M, Brackmann HH, Eis-Hübinger AM. Contamination of coagulation factor concentrates with human parvovirus B19 Genotype 1 and 2. *Thromb Haemost* 2004;92:838-45.
- Koppelman MH, van Swieten P, Cuijpers HT. Real-time polymerase chain reaction detection of parvovirus B19 DNA in blood donations using a commercial and an in-house assay. *Transfusion* 2011;51:1346-54.
- Saikawa T, Anderson S, Momoeda M, Kajigaya S, Young NS. Neutralizing linear epitopes of B19 parvovirus cluster in the VP1 unique and VP1-VP2 junction regions. *J Virol* 1993;67:3004-9.
- Young NS, Brown KE. Parvovirus B19. *N Engl J Med* 2004;350:586-97.
- 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. □