

薬事・食品衛生審議会  
平成26年度第1回血液事業部会運営委員会

議事次第

日時：平成26年6月25日（水）

15:00～17:00

場所：スタンダード会議室

虎ノ門HILLS店 2階ホール

- 資料6-2 平成26年4月25日報道発表資料「献血の受付方法が変わります！」（日本赤十字社）
- 資料6-3 個別検体によるスクリーニング NAT システムの導入について（日本赤十字社）
- 資料7 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

議題：

1. 議事要旨の確認
2. 感染症定期報告について
3. 血液製剤に関する報告事項について
4. 「献血血液の研究開発等での使用に関する指針」の一部改正等について
5. オーストラリアの視察報告について
6. 日本赤十字社からの報告事項について
7. その他

配付資料：

座席表

委員名簿

設置要綱

資料1 平成25年度第6回運営委員会議事要旨（案）

資料2-1 感染症定期報告（研究報告概要一覧表及び個別症例報告概要）

資料2-2 感染症定期報告（研究報告詳細版）

資料3-1 供血者からの遡及調査の進捗状況について

資料3-2 血液製剤に関する医療機関からの感染症報告事例等について

資料3-3 献血件数及びHIV抗体・核酸増幅検査陽性件数について

資料4-1 「献血血液の研究開発等での使用に関する指針」に基づく公募の方法の一部改正について

資料4-2 献血の同意説明書（変更案）について（日本赤十字社）

資料4-3 「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の変更案（日本赤十字社）

資料4-4 「献血血液の研究開発等での使用に関する指針」改正案

資料4-5 「献血血液の研究開発等での使用に関する指針」改正案 新旧対照表

資料4-6 「献血血液の研究開発等での使用に関する指針」Q&A 改正案

資料5 オーストラリア視察概要

資料6-1 愛知県赤十字社血液センターにおける輸血用血液製剤保管管理の事故について（日本赤十字社）

平成26年度第1回  
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  
座

平成26年6月25日(水)  
スタンダード会議室  
虎ノ門HILLS店2階ホール  
15:00~17:00

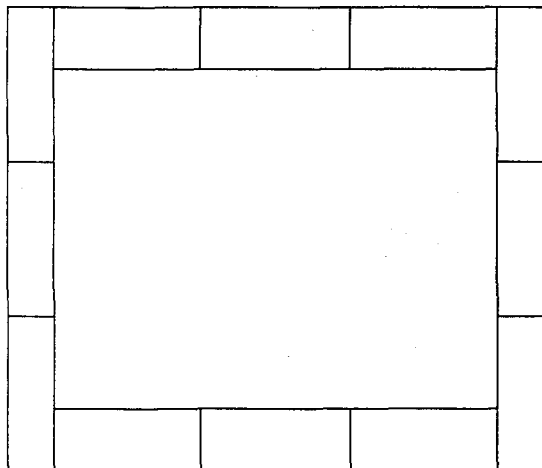
薬事・食品衛生審議会薬事分科会  
血液事業部会運営委員会 委員名簿

速記

大平  
委員長代理

牧野  
委員長

岡田委員  
田崎委員  
花井委員  
山口委員



日本赤十字社  
田所経営会議委員

日本赤十字社  
碓井総括副本部長

日本赤十字社  
日野製造販売総括管理監

日本赤十字社中央血液研究所  
石川研究開発部長職務代理

血液課長対補策佐課  
血液対策企画官  
血液対策課長  
血液課長対補策佐課

(事務局席)

傍聴席

- 大平 勝美 (おおひら かつみ)  
はばたき福祉事業団理事長
- 岡田 義昭 (おかだ よしあき)  
埼玉医科大学病院輸血・細胞移植部
- 田崎 哲典 (たさき てつなり)  
東京慈恵会医科大学附属病院輸血部診療部長教授
- 花井 十伍 (はない じゅうご)  
ネットワーク医療と人権理事
- 牧野 茂義 (まきの しげよし)  
国家公務員共済組合連合会虎の門病院輸血部長
- 山口 照英 (やまぐち てるひで)  
国立医薬品食品衛生研究所生物薬品部研究員

(50音順、敬称略)

## 薬事分科会血液事業部会運営委員会規程

### (目的)

第1条 この規程は薬事分科会規程（以下「規程」という。）第2条第1項に基づき設置される血液事業部会（以下「部会」という。）に置かれる運営委員会（以下「委員会」という。）の運営に関し必要な事項を定め、審議の円滑な実施を図ることを目的とする。

### (所掌)

第2条 委員会は、規程第3条第5項に規定する部会が調査審議すべき血液製剤（血液製剤代替医薬品を含む。以下同じ。）に係る事項（以下「部会で調査審議すべき事項」という。）を検討するとともに、以下に掲げる事項を確認し、部会に報告するものとする。

- 一 安全な血液製剤の安定供給の確保等に関する法律（以下「血液法」という。）第26条第1項に規定する血液製剤の製造又は輸入の実績に係る報告
- 二 血液法第29条に規定する薬事法第68条の8第1項に規定する生物由来製品（血液製剤に限る。）の評価に係る報告
- 三 規程第4条第1項の規定に基づき部会に置かれる調査会における調査審議の状況
- 四 その他部会で調査審議する事項のうち特別の事項についての状況

### (委員会への所属)

第3条 委員会に所属すべき委員は、部会に所属する委員、臨時委員及び専門委員（以下「委員等」という。）の中から、部会長が指名する。

- 2 部会長は、前項の規定により委員会に属すべき委員等を指名する場合は、血液製剤を使用する患者の代表、医療関係者、血液事業の専門家を含め、数名を指名する。
- 3 部会長は、第一項の規定により委員会に属すべき委員等を指名した場合は、部会においてその旨を報告しなければならない。

### (委員長の選任)

第4条 委員会に委員長を置き、委員会に属する委員等の互選により選任する。

- 2 委員長は、委員会の事務を掌理する。
- 3 委員長に事故があるときは、委員会に属する委員等のうちから委員長があらかじめ指名する者が、その職務を代理する。

### (委員会の開催)

第5条 委員会は、四半期（1月から3月まで、4月から6月まで、7月から9月まで及び10月から12月までの各期間をいう。）ごとに開催する。

2 前項に規定する場合のほか、委員等が必要と認めるときは委員会を開催することができる。

### (議決)

第6条 部会への報告の要否等、議決を行う必要がある委員会の議事は、委員会に属する委員等で会議に出席したものの過半数で決し、可否同数のときは、委員長の決するところによる。

### (委員会の運営)

第7条 調査審議にあたっては、議事の内容等に応じて、部会長の判断により日本赤十字社の役職員又は参考人に出席を求めることができる。

### (議事の公開)

第8条 委員会は原則として公開する。ただし、公開することにより、委員の自由な発言が制限され公正かつ中立な審議に著しい支障をおよぼすおそれがある場合、又は、個人の秘密、企業の知的財産等が開示され特定の者に不当な利益又は不利益をもたらすおそれがある場合については、委員長は、これを非公開とすることができる。

### (雑則)

第9条 この規程に定めるもののほか、委員会の運営に関し必要な事項は、部会長が部会に諮り決定するものとする。

### 附則

この規程は、平成15年7月30日から施行する。

### 附則

この規程は、平成25年12月18日から施行する。

資料1

平成25年度第6回 血液事業部会運営委員会議事要旨(案)

日時：平成26年3月19日(水) 17:00~19:00

場所：弘済会館 蘭

出席者:(委員)

牧野委員長、大平委員、花井委員、岡田委員、田崎委員、山口委員

(日本赤十字社血液事業本部)

田所経営委員、碓井総括副本部長、日野副本部長、竹ノ内主幹、河島製造

管理課長、石川研究第一課長

(事務局)

浅沼課長、野村企画官、上田補佐(以上、血液対策課)

- 議 題：
1. 議事要旨の確認
  2. 感染症定期報告について
  3. 血液製剤に関する報告事項について
  4. HIV陽性血液から輸血された事案に係る対応について
  5. 日本赤十字社からの報告事項について
  6. 「献血血液の研究開発等での使用に関する指針」に基づく公募の事前評価について
  7. その他

【審議概要】

議題1について

議事要旨に関する意見等については、事務局まで連絡することとされた。

議題2について

感染症定期報告について、事務局から説明後、質疑応答がなされた。

議題3について

事務局より、供血者からの遡及調査の進捗状況、血液製剤に関する報告事項、献血件数及びHIV抗体・核酸増幅検査陽性件数について説明がなされた。

議題4について

事務局から、前回の運営委員会で報告されたHIV陽性血液から輸血された事案に係る対応の進捗について、説明された。

議題5について

日本赤十字社より、感染性因子低減化(不活化)技術ミラソルの導入に向けた進捗状況及び血液事業情報システム(次期システム)の導入について、説明された。

議題6について

「献血血液の研究開発等での使用に関する指針」に基づき、公募申請に対する事前評価が実施された。運営委員会での事前評価が必要とされた31件のうち、「承認」14件、「修正の上で承認」15件、「却下」2件であった。なお、事前評価が不要とされた26件については、いずれも「承認」とされた。

議題7について

事務局より、フィブリノゲン製剤の調査に係る公表事項の報告がなされた。

以上



A 研究報告（概要一覧表）

平成 26 年 6 月 25 日  
（平成 26 年 2 月～平成 26 年 4 月受理分）

研究報告のまとめ方について

- 1 平成 26 年 2 月～平成 26 年 4 月までに提出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 概要の後に、個別の研究報告の詳細を添付した。

血液対策課資料

【血液製剤、輸血の安全性に関する報告】

感染症	出典	概要	番号
<b>&lt;肝炎ウイルス&gt;</b>			
E型肝炎	AABB Annual Meeting & CTTXPO 2013. SP405	フランスにおけるE型肝炎ウイルス(HEV)の報告。2012年、異なる2ロットの有機溶媒/界面活性剤(SD)処理された血漿を輸血された患者2例でHEV感染が報告された。供血者のHEVの遺伝子配列は患者のHEVと一致した(いずれもジェノタイプ3)。	1
E型肝炎	Blood. 123(2014)796-797	フランスにおけるE型肝炎の報告。Intercept blood system(ソラレン化合物であるアモトサレン処理とUVA照射によるDNA及びRNAの複製阻害を利用した血液製剤の病原体不活化法)で処理した血漿製剤の輸血によるE型肝炎感染が2例報告された(いずれもジェノタイプ3)。Intercept病原体不活化技術に対するE型肝炎ウイルスの抵抗性が示された。	2
E型肝炎	Lancet. 383(2014)218	西ヨーロッパにおけるE型肝炎の報告。スウェーデン及びドイツでは、それぞれ1/7986及び1/4524の血漿供血がE型肝炎ウイルス(HEV) RNA陽性であることが報告された。また、ドイツの血漿分画製剤のプール血漿のうち10%がHEV RNA陽性であった。2012年以降、フランスの2ヶ所の医療機関において、輸血を介した慢性E型肝炎が5例報告された。近年、免疫不全患者において、慢性E型肝炎が報告されており、潜在的供血者である一般集団のE型肝炎罹患率や免疫不全状態患者におけるE型肝炎症状の重篤性を考慮すると、血液製剤における体系的なHEVスクリーニング(核酸検査)が必要であると考えられた。	3
E型肝炎	J Med Virol. 86(2014)478-783	イギリスにおけるE型肝炎ウイルス(HEV)とサイトメガロウイルス(CMV)、エプスタインバーウイルス(EBV)との交差反応に関する報告。ロンドンの三次医療機関において3年間のHEV血清学的検査(1423例)の後方視点的分析が行われ、HEV-IgM抗体陽性33例のうち、CMV-IgM抗体陽性が8例(24.2%)、EBV-IgM抗体陽性が11例(33.3%)の交差反応性が示された。	4
<b>&lt;その他のウイルス&gt;</b>			
なし			

<b>&lt;その他&gt;</b>			
変異型クローイツフェルト・ヤコブ病	Emerg Infect Dis. 20(2014)114-117	変異型クローイツフェルト・ヤコブ病(vCJD)患者の血液成分の感染価評価に関する報告。vCJD確定患者1例の赤血球、血漿又は白血球を、それぞれウシPrPを過剰発現するトランスジェニックマウス(tgBov)24匹の脳内に注入した。リン酸緩衝液と健常人の脳組織、血漿を摂取したtgBovマウスでは臨床徴候又は異常型PrPの蓄積は観察されなかった。しかし、vCJD患者の血液分画を注入されたうち1~3匹/24匹で異常型PrPが陽性であった。このことから、患者の全血の総感染価は4.45 ID/mL程度であると推定された。	5
変異型クローイツフェルト・ヤコブ病	AABB Annual Meeting & CTTXPO 2013. SP381	伝達性海綿状脳症(TSE)感染マウスの血漿エキソソームから異常プリオン蛋白(PrP)を生化学的に分離した報告。ヒトTSEに感染させた臨床症状を呈するマウスの血漿からエキソソームを分離し、未感染マウスの脳ホモジネートに加え、ウエスタンブロット法でPrP検出を行った。その結果、血漿エキソソームからPrPが検出された。これは血漿エキソソーム中に含まれるPrPを生化学的に検出した初の報告である。	6
変異型クローイツフェルト・ヤコブ病	Blood. 123(2014)452-453	ステンレス鋼粉末を用いた異常プリオン蛋白(PrP)検出血液検査の検出感度を調査した報告。PrP陽性が想定されない米国赤十字社の血液検体5,000件及び英国健常者集団の血液検体200件をステンレス鋼粉末を用いた血液検査にて検査したところ、陽性検体はなかった。この血液検査の陽性尤度比から真の陽性率は偽陽性率と比べ7,000倍であり、陰性尤度比から真の陰性率は偽陰性率と比べ3倍であることが示された。また、変異型クローイツフェルト・ヤコブ病(vCJD)感染患者と非感染患者の小規模パネルを盲検的に調査した結果、10例のvCJD患者検体のうち7検体が陽性(検出感度70%)であり、以前の検査と同様であった。種々の限界や不確実性はあるものの、この血液検査はプリオン曝露集団と非曝露集団を比較する有病率試験の正当性を裏付けるには十分な性能を有していると考えられた。	7
クローイツフェルト・ヤコブ病	Health Protection Report 14 Feb 2014	潜在的な医原性クローイツフェルト・ヤコブ病(CJD)感染に対して行われた強化監視活動の更新情報。輸血後に変異型CJD(vCJD)を発症したドナーから輸血を受けたレシビエント、献血後にvCJDを発症した患者に献血したドナー等のモニタリング結果が報告されている。また、最近特定されたヒトプリオン病である可変プロテアーゼ感受性プリオン疾患(VPSPr)に関する概要が報告されている。VPSPrは2008年、米国で最初に報告され、以降、類似症例が他国で確認されている。VPSPr患者には、後天性ヒトプリオン病の特定のリスク因子がなく、プリオンタンパク質遺伝子のコード配列に関連突然変異が認められていない。VPSPrは孤発性CJD(sCJD)と同年齢層の患者が罹患する。臨床的特徴はsCJDより変化に富んでおり、運動異常、認知機能低下、歩行不安定がみられる。臨床症状を呈する期間はsCJDより長く、発症から1年以上生存する。そのため、臨床診断基準を設定することが困難であり、さらなる研究が望まれる。	8

【その他の報告】

感染症	出典	概要	番号
<b>&lt;肝炎ウイルス&gt;</b>			
E型肝炎	Emerg Infect Dis. 19(2013) 686-688	英国におけるE型肝炎ウイルス(HEV)感染の報告。2011年5月、42歳の女性が1週間持続する倦怠感、下痢、嘔吐等を呈して入院した。検査の結果、HEV(遺伝子型3)の感染が確認された。患者は、過去3カ月間の海外渡航歴はなく、ブタ肉製品も摂食せず、家畜への接触も認められなかった。しかし、発症4週間前に血栓塞栓症予防のために低分子ヘパリンの投与を受けていた。このことから病院内のヘパリン製剤についてHEV検査が実施されたが、いずれのバッチも陰性であった。	9
E型肝炎	Clin Infect Dis. 57(2013) 1369-1370	バングラデシュにおけるギラン・バレー症候群(GBS)患者のE型肝炎の報告。ダッカの病院において、GBS患者100例におけるE型肝炎ウイルス(HEV) IgM及びIgG抗体陽性率を調査したところ、対象群200例に比べて、GBS患者群においてHEV IgM抗体陽性率は有意に高くGBSとHEV感染の関連が示された。	10
<b>&lt;その他のウイルス&gt;</b>			
デング熱	ProMED-mail 20140109.2162194	日本から帰国したドイツ人旅行者におけるデング熱発症の報告。2013年9月9日、2週間の日本旅行から帰国した51歳ドイツ人女性の血清サンプルにおいて、デングウイルスIgM抗体、IgG抗体、NS1抗原がすべて陽性であったことから急性デングウイルス感染が示唆された。患者は笛吹市においてブドウ狩りをした際、複数箇所蚊に刺されたことを申告している。患者の行動やデングウイルスの潜伏期間を考慮すると、日本で感染した可能性が高いと考えられた。	11
デング熱	厚生労働省 2014年1月10日	デング熱の国内感染疑い例に関する、厚生労働省から各都道府県宛での情報提供及び協力依頼。2013年8月下旬に日本を周遊して帰国したドイツ人について検査を実施した結果、デング熱に感染していたことが確認された。日本の専門家による検討の結果、日本国内で感染した可能性が否定できないとの結論に至った旨、情報提供がなされた。また、医療機関関係者等に対して、海外渡航者への注意喚起と、海外からの帰国者に発症者がある場合には保健所への報告を行うよう協力依頼がなされた。	12

デング熱	Euro Surveill. 18(2013) 20661	フランスにおける土着性デング熱の報告。2013年10月、ヒトスジシマカ(Aedes Albopictus)の生息地である南フランスのプーシュ・デュ・ローヌ県で、50歳代女性検査技師がデング熱と診断された。患者は発症15日前からその地域を出ていないことや、職業感染の可能性が除外されたことから、当該地域の昆虫媒介の可能性が高い。これは、2010年にアルプ・マリティーム県で発生した2例に続く、フランス本土における2番目の土着性デング熱症例の可能性が高い。	13
重症熱性血小板減少症候群	第61回日本ウイルス学会学術集会 2013年11月10~12日、01-6-12	重症熱性血小板減少症候群(SFTS)の血清診断法に関する報告。SFTSの原因ウイルス(SFTSV)感染細胞又は組換え核蛋白質(rNP)を用いたSFTSの血清診断法を開発し、その有用性を評価した。SFTSV感染細胞を抗原とした間接蛍光抗体法(IFA)及びIgG-ELISAにより、患者の回復期血清から抗SFTSV抗体が検出された。一方、SFTSVのrNPを発現させたHeLa細胞を用いたIFA及びIgG-ELISAでも抗SFTSV抗体が検出可能であったが、抗体価は低く、感度も低かった。SFTSV感染細胞を抗原とした血清学的診断法は、SFTSV感染のサーベイランスに有用であると考えられた。	14
パラミクソウイルス感染	Emerg Infect Dis. 20(2014) 211-216	南スーダン又はウガンダにおいて確認された新規パラミクソウイルスの報告。南スーダン及びウガンダにおける調査から帰国した米国人から新規のパラミクソウイルスが検出され、暫定的にSosuga virusと命名された。当該患者は、調査地においてげっ歯類及びコウモリを捕獲していた。症例は、発熱、倦怠感、関節痛、広範囲の発疹及び出血を呈して入院したが、14日後に退院した。症例から分離されたウイルスについて解析を行った結果、新規のパラミクソウイルスであると確認された。	15
SARS様コロナウイルス感染	Nature. 503(2013)535-538	中国におけるSARS様コロナウイルス(SL-CoV)の報告。中国雲南省のキクガシラコウモリから分離された2種類の新規コウモリコロナウイルス(CoV)は、スパイクたんぱく質の受容体結合ドメインにおいて、既知のコウモリCoVと比較しSARS-CoVとの近縁性が高いことが示された。さらに、糞便サンプルから、アンジオテンシン変換酵素IIをレセプターとして細胞侵入するコウモリSL-CoVを分離することに初めて成功した。これらの結果から、一部のコウモリSL-CoVのヒト感染には中間宿主が必要ではないことが示唆された。	16

クリミア・コンゴ出血熱	ProMED-mail 20131204.2092523	インドにおけるクリミア・コンゴ出血熱の報告。インドのグジャラート州において、クリミア・コンゴ出血熱のアウトブレイクの規模が拡大している。3年間でクリミア・コンゴ出血熱に感染した患者が30例報告され、14例が死亡した。感染の約半数はBharwadと呼ばれる羊飼いの集団において発生している。	17
ワクシニアウイルス感染	Emerg Infect Dis. 19(2013)2017-2020	ブラジルにおけるワクシニアウイルスの報告。2010年7月、ブラジルのアマゾン地域に位置するパラ州において、乳牛44頭と酪農従事者3人が重症発疹性のワクシニアウイルスに感染した。感染したウシの痂皮及びウシとヒトの血清サンプルからウイルスを分離し系統発生解析を行ったところ、1963年にパラ州のげっ歯類から分離されたウイルス株及び南米で使用された天然痘ワクチンウイルス株とは異なる株であることが明らかとなり、パラ州における新規ワクシニアウイルスの定着が示された。	18
<その他>			
シャーガス病	Emerg Infect Dis. 20(2014)146-148	日本におけるシャーガス病母子感染の報告。2012年10月、日本在住の13歳の少年及びその母親がTrypanosoma cruzi血清学的スクリーニングで抗体陽性であり、巨大結腸症を伴う先天性シャーガス病であると診断された。少年の両親及び祖父母は1992年までボリビアに在住していた日系人である。	19

## B 個別症例報告概要

- 総括一覧表
- 報告リスト

平成26年6月25日  
(平成26年2月～平成26年4月受理分)

### 個別症例報告のまとめ方について

個別症例報告が添付されているもののうち、個別症例報告の重複を除いたものを一覧表の後に添付した（国内症例については、資料3において集積報告を行っているため、添付していない）。

感染症発生症例一覧

第22回	番号	感染症の種類		発生日	性別	年齢	発現時期	転帰	出典	区分	備考
		器官別大分類	基本語								
	1	感染症および寄生虫症	E型肝炎	フランス	女	62	不明	軽快	症例報告	外国製品	識別番号3-13000018 報告日:2014年1月31日

受理日	番号	報告者名	一般名	生物由来成分名	原材料名	原産国	含有区分	文献	症例	適正措置報告
27-Feb-14	130976	CSLベーリン グ株式会社	人血清アルブミン 人血液凝固素XIII 因子 フィブリノゲン加第 XIII因子 フィブリノゲン配合 剤	人血清アルブ ミン	ヒト血液	米国、ドイツ、 オーストリア	有効成分 添加物	あり	あり	なし

第22回	番号	感染症の種類		発生日	性別	年齢	発現時期	転帰	出典	区分	備考
		器官別大分類	基本語								
	1	感染症および寄生虫症	B型肝炎	米国	女	45歳	2013/10/14	不明	症例報告	外国製品	識別番号3-13000031 報告日:2013年12月26日
	2	感染症および寄生虫症	B型肝炎	イギリス	男	不明	不明	不明	症例報告	外国製品	識別番号3-13000027 報告日:2013年11月19日
	3	臨床検査	肝炎ウイルス検査陽性	米国	男	不明	不明	回復	症例報告	外国製品	識別番号3-13000037 報告日:2014年1月17日

受理日	番号	報告者名	一般名	生物由来成分名	原材料名	原産国	含有区分	文献	症例	適正措置報告
28-Apr-14	140099	CSLベーリン グ株式会社	乾燥pH4処理人 免疫グロブリン pH4処理酸性人 免疫グロブリン (皮下注射)	人免疫グロブ リンG	ヒト血液	ドイツ、オー ストリア、ポー ランド、米国、 スイス	有効成分	あり	あり	なし

A 研究報告（詳細版）

平成 26 年 6 月 25 日  
（平成 26 年 2 月～平成 26 年 4 月受理分）

医薬品 研究報告 調査報告書

Table with 5 columns: 識別番号・報告回数, 一般的名称, 販売名(企業名), 報告日, 第一報入手日, 新医薬品等の区分, 総合機構処理欄. Content includes '新鮮凍結人血漿', '2013. 11. 8', '公表国', 'フランス', and '研究報告の公表状況'.

研究報告の概要

報告企業の意見

今後の対応

SD処理されたプール血漿による輸血感染が発生したとの報告である。

日本赤十字社では、厚生労働科学研究「経口感染によるウイルス性肝炎(A型及びE型)の感染防止、病態解明、遺伝的多様性及び治療に関する研究」班と共同して、献血者におけるHEV感染の疫学調査を行っている。今後もHEV感染の実態に関する情報の収集及び安全対策に努める。

MedDRA/J Ver.16.1J

214A

ABSTRACT SUPPLEMENT

JRC2013T-044

Background/Case Studies: Hepatitis E virus (HEV) belongs to the genus Hepevirinae... S. N. Cabral, M. A. Ferreira, S. C. Ferreira, S. C. Ferreira, J. M. Kulkarni, No Nothing to disclose, R. A. F. Pereira, Nothing to disclose, M. B. Polder, Nothing to disclose, C. M. Romão, Nothing to disclose.

Background/Case Studies: Hepatitis E Virus (HEV) belongs to hepevirinae family... S. N. Cabral, M. A. Ferreira, S. C. Ferreira, S. C. Ferreira, J. M. Kulkarni, No Nothing to disclose, R. A. F. Pereira, Nothing to disclose, M. B. Polder, Nothing to disclose, C. M. Romão, Nothing to disclose.



HEV is often asymptomatic and it is probable that in number of cases transfusion of contaminated SD-plasma resulted in undiagnosed resolved infection. The protective role of anti-VHE antibodies in recipients, as well as in the pooled plasma lots, is being further investigated. Transfusion transmission of HEV is a matter of concern for the French Blood Transfusion Establishment (EFS). Hence HEV screening was implemented in December 2012 on pools of 95 samples, as it was already done for Parvovirus B19 and Hepatitis A virus. Infectivity of HEV-RNA containing SD-plasma lots and HEV transmission by other labile components are currently being investigated.

**Disclosure of Commercial Conflict of Interest**

A. Assal: Nothing to disclose; C. Constant: Nothing to disclose; P. Gallian: Nothing to disclose; Y. Piquet: Nothing to disclose; P. Tiberghien: Immunetics, Grants or Research Support

**Disclosure of Grants Conflict of Interest**

A. Assal: Nothing to disclose; C. Constant: Nothing to disclose; P. Gallian: Nothing to disclose; Y. Piquet: Nothing to disclose; P. Tiberghien: Nothing to disclose

✓ SP405

**Photochemical Inactivation of Hepatitis E Virus (HEV) in Platelet Samples (PCs) using Mirasol Pathogen Reduction Technology (PRT) system**

T Owada<sup>1</sup> (*towada@jrc.or.jp*), M Kaneko<sup>1</sup>, C Matsumoto<sup>1</sup>, M Igarashi<sup>1</sup>, S Uchida<sup>1</sup>, M Satake<sup>1</sup>, K Tadokoro<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Central Blood Institute, Japanese Red Cross Society, Tokyo, Japan

**Background/Case Studies:** Hepatitis E Virus (HEV) had previously been considered to be transmitted perorally and to be particularly localized to developing regions, but has recently been found to be spreading throughout the world, including in industrialized nations. It has also been demonstrated that HEV can be transmitted via blood transfusion. Thus, the risk of HEV transmission via transfusion is now a major global concern. The Japanese Red Cross Society has become focused on this virus as a blood-borne infectious disease, and is the first manufacturer in the world of blood-related pharmaceuticals to introduce nucleic acid amplification test (NAT) screening for HEV tentatively. An assay system for the infectious titer (tissue culture infectious dose: [TCID<sub>50</sub>]) of HEV cultured from human HEV-RNA-positive plasma and serum was recently successfully demonstrated. This methodology was applied to investigate the ability of the Mirasol PRT system (Terumo BCT, Lakewood, CO) to inactivate live HEV in contaminated PC. **Study Design/Methods:** PCs were spiked with cultured HEV genotype (G) 3 or G4 and treated with riboflavin and ultraviolet (UV) light using the Mirasol PRT system. PCs were examined before and after treatment for HEV load via infectivity titration (TCID<sub>50</sub>) against A549, an HEV-infectible cell line. In addition, the quantitative real time reverse transcription-polymerase chain reaction (PCR) was performed to determine the load of HEV interacting with A549 cells based on a quantitative change in a continuous process of virus binding and entry, to clarify the effects of the Mirasol PRT system on the initial step of HEV infection. **Results/Findings:** A significant reduction in HEV G3 infectious titer of more than 3 log<sub>10</sub> was recorded after the treatment of PCs with the Mirasol PRT system. In addition, an inactivation of more than 2 log<sub>10</sub> was confirmed when HEV G4 was used. However, it was demonstrated that no alteration of the efficiency of HEV binding and entry into host cells had been observed. **Conclusion:** The current data indicated that the Mirasol PRT system efficiently inactivated live HEV in PCs, and could therefore potentially be used to lower the possibility of HEV transmission through the blood products. The limited load (infectious titer, RNA copies) of HEV obtained from in vitro cultivation precluded an evaluation of the robustness of the measured log reduction in HEV infectivity. Hence, a more reliable log reduction value might be obtained if a higher load of the virus could be applied. The inactivation mechanism expressed by this system may be attributed to an inhibition of HEV replication during the post-viral entry process. In summary, the Mirasol PRT system clearly reduced the risk of HEV transmission due to blood transfusion.

**Disclosure of Commercial Conflict of Interest**

M. Igarashi: No Answer; M. Kaneko: Nothing to disclose; C. Matsumoto: Nothing to disclose; T. Owada: Nothing to disclose; M. Satake: Nothing to disclose; K. Tadokoro: No Answer; S. Uchida: Nothing to disclose

**Disclosure of Grants Conflict of Interest**

M. Igarashi: No Answer; M. Kaneko: Nothing to disclose; C. Matsumoto: Nothing to disclose; T. Owada: Nothing to disclose; M. Satake: Nothing to disclose; K. Tadokoro: No Answer; S. Uchida: Nothing to disclose

✓ SP407

**Development of an Effective Prevention Method for T-cell Lymphotropic Virus Type I (HTLV-1) Infection Using HTLV-1 Sero-Positive Serum In Vitro**

K Nojima<sup>1</sup> (*jume@nri.d.go.jp*), T Mizukami<sup>1</sup>, R Sobata<sup>2</sup>, C Matsumoto<sup>2</sup>, M Kuramitsu<sup>1</sup>, K Okuma<sup>1</sup>, M Satake<sup>2</sup>, K Tadokoro<sup>2</sup>, K Yamaguchi<sup>1</sup>, I Hamaguchi<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Department of Safety Research on Blood and Biological Products, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan; <sup>2</sup>Central Blood Institute, Japanese Red Cross Society, Tokyo, Japan

**Background/Case Studies:** Human T-lymphotropic Virus Type I (HTLV-1) is a human RNA retrovirus that causes adult T-cell leukemia. The route of viral transmission is from mother to infant via breast milk. Thus, many countries recommend HTLV-1 sero-positive mothers not to breastfeed. In a Japanese endemic area, Nagasaki, this recommendation was more effective in reducing the number of vertical infections from mother to infant. However, new prevention methods and adequate treatment options apart from preventing HTLV-1 sero-positive mothers from breastfeeding are required. To develop effective prevention methods, immunoglobulin (IgG) was isolated from HTLV-1 sero-positive healthy carriers serologically excluded from blood donation by the Japanese Red Cross, and tested for its ability to prevent cell-to-cell infection. **Study Design/Methods:** An in vitro assay was developed to screen the inhibitory effect of IgGs on HTLV-1 infection using HTLV-1 infected cell lines MT-2 and SLB-1. Secondly, 30 HTLV-1 positive serums were prepared from excluded blood donations by CLEIA (confirmed by immunofluorescence assay in Japan in 2008), according to pre-viral load (PVL) and immunoreactivity to HTLV-1 antigens (*gp46*, *p24*, *pep180* [*gp46* amino acids 180-204]) to assess the prevention of HTLV-1 infection in vitro. **Results/Findings:** An in vitro HTLV-1 infection system was established using HTLV-1 infected cell lines MT2 and SLB-1 with the immortalized T lymphocyte cell line, Jurkat. During co-culture of Mitomycin C treated MT-2 or SLB-1 cells with Jurkat cells, HTLV-1 was successfully transmitted to Jurkat cells. When SLB-1 cells were donors, syncytium formation typical of HTLV-1 infected cells was observed. Next, 30 HTLV-1 sero-positive serums were tested using the co-culture system, and it was demonstrated that HTLV-1 sero-positive serum effectively inhibited HTLV-1 infection from MT-2 or SLB-1 cells to the Jurkat cells ( $P < 0.0001$ ). In addition, syncytium formation was also dramatically inhibited by HTLV-1 sero-positive serum treatment. These effects were more prominent when HTLV-1 sero-positive serum isolated from higher PVL carriers (PVL > 4%) was used. **Conclusion:** An assessment method was successfully developed for in vitro HTLV-1 infection using HTLV-1 infected cell lines. This method may be a powerful tool to screen anti-viral agents in vitro. In addition, it was found that HTLV-1 positive serum taken from asymptomatic donors with high PVL strongly inhibited HTLV-1 infection in the in vitro assay. Hyperimmune globulins are now being prepared from each donor's plasma to identify key epitopes that prevent HTLV-1 infection more effectively, both in vitro and in vivo using a humanized mouse model.

**Disclosure of Commercial Conflict of Interest**

I. Hamaguchi: Nothing to disclose; M. Kuramitsu: Nothing to disclose; C. Matsumoto: Nothing to disclose; T. Mizukami: Nothing to disclose; K. Nojima: Nothing to disclose; K. Okuma: Nothing to disclose; M. Satake: Nothing to disclose; R. Sobata: Nothing to disclose; K. Tadokoro: No Answer; K. Yamaguchi: Nothing to disclose

**Disclosure of Grants Conflict of Interest**

I. Hamaguchi: Nothing to disclose; M. Kuramitsu: Nothing to disclose; C. Matsumoto: Nothing to disclose; T. Mizukami: Nothing to disclose; K. Nojima: Nothing to disclose; K. Okuma: Nothing to disclose; M. Satake: Nothing to disclose; R. Sobata: Nothing to disclose; K. Tadokoro: No Answer; K. Yamaguchi: Nothing to disclose

✓ SP408

**Human T-Lymphotropic Virus (HTLV)-Screening of blood donors: Follow-Up of Infected Donors for 16 Years**

H P Fernandes<sup>1</sup> (*heloisefernandes@gmail.com*), A B Zangrolami<sup>1</sup>, A M Azevedo<sup>1</sup>, V A da Costa<sup>1</sup>, C A Petefini Pompeu<sup>1</sup>, N S Gonçales<sup>1</sup>, M M Magnus<sup>1</sup>, V Castro<sup>1</sup>, F Traina<sup>1</sup>, M Barjas-Castro<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Hemocentro, Universidade Estadual de Campinas—UNICAMP, Campinas—SP, Brazil

**Background/Case Studies:** Blood centers in Brazil began screening blood donors for HTLV antibodies in late 1993 and today these centers routinely screen for HTLV VII. Infection occurs in certain geographic locations around the world and in Brazil the prevalence in blood donors ranges around 0.46%. The aim of this study was to evaluate the frequency of discarded blood donations over the past 16 years, due to positive HTLV VII screening tests in

医薬品 研究報告 調査報告書

Table with 5 columns: 識別番号・報告回数, 一般的名称, 販売名(企業名), 報告日, 第一報入手日, 新医薬品等の区分, 総合機構処理欄. Includes details for Intercept blood system and HEV infection study.

使用上の注意記載状況・その他参考事項等

新鮮凍結血漿-LR「日赤」120
新鮮凍結血漿-LR「日赤」240
新鮮凍結血漿-LR「日赤」480

血液を介するウイルス、細菌、原虫等の感染
vCJD等の伝播のリスク

報告企業の意見

Intercept blood systemで病原体不活化処理された血漿製剤を輸血された患者2人に輸血HEV感染が発生したとの報告である。

今後の対応

日本赤十字社では、厚生労働科学研究「経口感染によるウイルス性肝炎(A型及びE型)の感染防止、病態解明、遺伝的多様性及び治療に関する研究」班と共同して、献血者におけるHEV感染の疫学調査を行っている。今後もHEV感染の実態に関する情報の収集及び安全対策に努める。

From bloodjournal.hematologylibrary.org at Central Blood Institute c/o Japanese Red Cross Society
2014. For personal use only.
JRC2014T-006

References
1. Perez-Garcia A, Ambisi-Impombaho A, Hadler JL, et al. Genetic loss of SH2B3 in acute lymphoblastic leukemia. Blood. 2013;121(4):2425-2432.
2. Belenav A, Wu C, Bacterek J, Tong W. Lnk epitopes mouse hematopoietic stem cell self-renewal and quiescence through direct interactions with JAK2. J Clin Invest. 2008;118(9):2832-2844.
3. Gen S, Gueller S, Chumkatorn K, Kawama N, Liu L, Koeller HP. Adaptor protein Lnk regulates the mutant MPL, MPLW515, associated with myeloproliferative disorders. Blood. 2007;110(9):3260-3264.
4. Baran-Maszczak E, Magford H, Chastang C, et al. Expression level and differential JAK2-V517-binding of the adaptor protein Lnk regulates JAK2-mediated signals in myeloproliferative neoplasms. Blood. 2010;116(25):5961-5971.
5. Lario H, Paredian A, Tefler A. LNK mutations in JAK2 mutation-negative ephephorosis. N Engl J Med. 2010;363(12):1199-1200.
6. On ST, Simons ER, Jones C, et al. Novel mutation in the inhibitory adaptor protein Lnk gene, JAK2-S1R1, signaling in patients with myeloproliferative neoplasms. Blood. 2010;116(9):2686-2692.
7. Todd JA, Walker NM, Cooper JD, et al. Genetics of Type 1 Diabetes in Finland. Wellcome Trust Case Control Consortium. Robust associations of four new chromosome regions from genome-wide analyses of Type 1 diabetes. Nat Genet. 2007;39(7):857-864.
8. Szapoczniak N, Petrova A, Gieger C, et al. A novel variant on chromosome 7q22.3 associated with mean platelet volume, counts, and function. Blood. 2009;113(5):931-937.
9. Alena A, Vardoulakou K, Olegari D, et al. The autoimmune disease-associated R153A, C226S and SH2B3 gene variants confer susceptibility for multiple sclerosis. Genes Immun. 2010;11(5):439-445.
10. Lamikova EY, Nelson AG, Kuzawa TL, et al. The carriage of the type 1 diabetes-associated rs2622V variant of human LNK correlates with increased proliferation of peripheral blood monocytes in diabetic patients. Pediatr Diabetes. 2011;12(1):127-132.
© 2014 by The American Society of Hematology

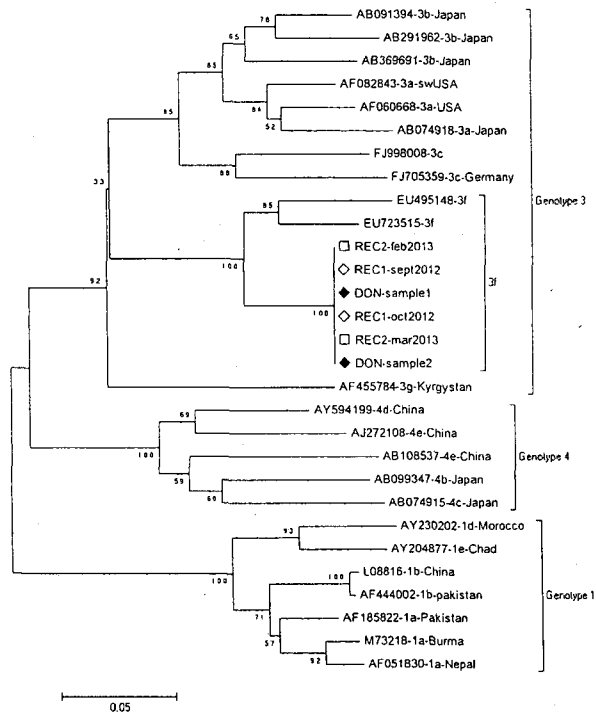
To the editor:

Hepatitis E transmission by transfusion of Intercept blood system-treated plasma

Hepatitis E virus (HEV) is a small nonenveloped RNA virus usually transmitted by the enteric route, although transmission by blood transfusion has also been reported. HEV infection usually leads to benign acute hepatitis. It can sometimes be fulminant, particularly among pregnant women and patients with preexisting liver disease, or evolve to a chronic state, especially in immunosuppressed subjects. Pathogen reduction (PR) of blood products (BPs) has demonstrated its effectiveness with regard to a large number of pathogens. Among PR methods, the Intercept method combines a synthetic polyanionic anionomer HCl treatment with ultraviolet A (UVA) light illumination to block the replication of DNA and RNA. We report 2 cases of HEV transmission by 2 units of Intercept-treated plasma originating from the same donor. The first patient is a 36-year-old man with chronic renal failure. He underwent a kidney transplantation, which was followed by acute humoral rejection and was treated by plasma exchanges from March/June 2012, during which 59 BPs were transfused. Liver cytologist was observed since June 2012. The diagnosis of hepatitis E was reached in October 2012 with detectable HEV RNA and weakly reactive anti-HEV immunoglobulin M. As of June 2013, the patient remained viremic, and rhubarin was introduced. HEV RNA was undetectable on the day of transplantation, as well as on the graft donor, but was detected in apheresis donation leading to transfused Intercept-treated fresh frozen plasma (FFP). The second patient is a 61-year-old man who underwent a liver transplantation for alcoholic liver cirrhosis in August 2012. Hepatitis E infection was detected in February 2013 with detectable HEV RNA and negative HEV serology. As of April 2013, the patient remained viremic, and rhubarin was introduced. He had received 72 BPs; HEV RNA was undetectable on the day of transplantation and in the graft donor but was detected in apheresis donation leading to transfused Intercept-treated FFP. All other blood donations for these patients tested negative for HEV RNA (using cryopreserved plasma samples collected on donation day). Further investigations revealed that the incriminated FFPs resulted from the same apheresis donation that was amotosalen/UVA light treated before segmentation in 3 units. Two of the 3 units were transfused to the 2 patients described above; the third was transfused to a patient who died 2 days following transfusion. The 2 FFP recipients and the donor were infected by a genotype 3i strain presenting a strict homology on partial sequences of the open reading frame 1 (ORF1) and ORF2 regions as previously described (Figure 1). Such strain identity demonstrates that both amotosalen and UVA light-treated FFPs provided by a unique donor transmitted HEV to ≥2 transfusion recipients. The involved donor was a 32-year-old woman who did not reveal any factor that could suggest that she was infected by HEV during the period of donation. Such novel HEV transmission through Intercept-treated FFP establishes resistance of HEV to Intercept PR technology. Non-enveloped viruses such as HEV are also known to be resistant to solvent/detergent treatment. In vitro, assessment has established that hepatitis A virus, a similar nonenveloped virus, as well as feline calicivirus, a model for HEV, are poorly sensitive to amotosalen/UVA light. Hepatitis E has recently emerged as a significant cause of transfusion-induced viral hepatitis. Generalizing HEV screening for all blood donations, or alternatively for a fraction of BPs to be transfused in high-risk patients, is being considered in France.

Liaette Hauser
Etablissement Français du Sang Ile de France
Iry sur Seine, France
Anne-Marie Rouze-Afonso
Centre National de Référence des Virus des Hépatites
à Transfusion Entérique,
Hôpital Paul Brousse,
Vincennes, France
Alexandre Baylouné
Etablissement Français du Sang Ile de France,
Iry sur Seine, France
Marion Simonet
Etablissement Français du Sang Ile de France,
Iry sur Seine, France
Bénédicte Desau Fischer
Hôpital Cochin,
Paris, France
Nicolas Burin des Roiers
Etablissement Français du Sang Ile de France,
Iry sur Seine, France

**Figure 1. Phylogenetic analysis of partial ORF1 sequence.** Phylogenetic tree was constructed on the MEGA4 software using the neighbor-joining method from a Kimura 2-parameter distance matrix based on partial nucleotide sequences of ORF1 encoding for RdRp, as previously described (4). Bootstrap values obtained from 500 resamplings are shown. A 100% homology is observed between blood donor sequences obtained from 2 aliquots of the same donation (DON sample 1 and sample 2) and recipient's sequences (REC1 and REC2) obtained from 2 different samples. GenBank reference sequences are indicated by their accession number.



Vincent Mallet  
Hôpital Cochin,  
Assistance Publique Hôpitaux de Paris,  
Unité Mixte de Recherche 1016,  
Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale,  
Université Paris Descartes,  
Paris, France

Pierre Tiberghien  
Etablissement Français du Sang, Saint Denis,  
Unité Mixte de Recherche 1098,  
Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale,  
Université de Franche-Comté,  
Besançon, France

Philippe Bierling  
Etablissement Français du Sang Ile de France, Ivry sur Seine,  
Unité Mixte de Recherche 955,  
Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale,  
Université Paris Est,  
Créteil, France

**Acknowledgments:** L.H. designed research, collected, analyzed and interpreted data, and wrote the manuscript; A.-M.R.-A. performed biological analysis and wrote the manuscript; A.B., M.S., and N.B.d.R. collected data, participated to the patients' diagnosis; B.D.F. and V.M. diagnosed the disease and followed the first patient; P.T. interpreted data and provided critical review of the manuscript; and P.B. designed research, interpreted data, wrote and edited the manuscript.

**Conflict-of-interest disclosure:** The authors declare no competing financial interests.

**Correspondence:** Philippe Bierling, Etablissement Français du Sang Ile de France, 122-130 rue Marcel Hartmann, Léa Park, Bat B, 94200 Ivry sur Seine, France; e-mail: philippe.bierling@efs.sante.fr.

### References

1. Kamar N, Bendall R, Legrand-Abravanel F, et al. Hepatitis E. *Lancet*. 2012; 379(9835):2477-2488.
2. Colson P, Coze C, Gallian P, Henry M, De Micco P, Tamalet C. Transfusion-associated hepatitis E, France. *Emerg Infect Dis*. 2007;13(4):648-649.
3. Haïm-Boukobza S, Ferey MP, Vétillard AL, et al. Transfusion-transmitted hepatitis E in a misleading context of autoimmunity and drug-induced toxicity. *J Hepatol*. 2012;57(6):1374-1378.
4. Tamura A, Shimizu YK, Tanaka T, et al. Persistent infection of hepatitis E virus transmitted by blood transfusion in a patient with T-cell lymphoma. *Hepatol Res*. 2007;37(2):113-120.
5. Lin L, Hanson CV, Alter HJ, et al. Inactivation of viruses in platelet concentrates by photochemical treatment with amotosalen and long-wavelength ultraviolet light. *Transfusion*. 2005;45(4):580-590.
6. Singh Y, Sawyer LS, Pinkoski LS, et al. Photochemical treatment of plasma with amotosalen and long-wavelength ultraviolet light inactivates pathogens while retaining coagulation function. *Transfusion*. 2006;46(7):1168-1177.
7. Coilly A, Haïm-Boukobza S, Roche B, et al. Posttransplantation hepatitis E: transfusion-transmitted hepatitis rising from the ashes. *Transplantation*. 2013;96(2):e4-e6.

医薬品 研究報告 調査報告書

Table with 5 columns: 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. Includes details for '新鮮凍結人血漿' and '研究報告の公表状況'.

研究報告の概要

MedDRA/J Ver.16.1J

Correspondence

JRC2014T-007



Should we screen blood products for hepatitis E virus RNA?

Hepatitis E was first identified during an outbreak of acute hepatitis in the Kashmir Valley in 1978. The causal agent, an enterically-transmitted non-enveloped RNA virus, was identified in developing countries where the most prevalent genotypes are genotypes 1 and 2. Hepatitis E virus is endemic in many developing countries; animals such as swine, boar, and deer are reservoirs of hepatitis E virus genotypes 3 and 4. Human infections occur after ingestion of undercooked meat or liver from infected animals. Very high seroprevalences, up to 16%, have been described in some regions. Recently, chronic hepatitis E infections leading to cirrhosis or neurological complications were described in patients with immunodeficiencies in west European countries. Chronic hepatitis E infection has been described in patients receiving liver, kidney, pancreas, lung, or heart transplants, after haemopoietic stem cell transplantation, after chemotherapy in HIV patients, and in patients taking steroids. Importantly, hepatitis E virus can be transmitted by blood-derived products. A high prevalence of IgM against hepatitis E virus was observed after transplants in Asia and in European countries. In Sweden and Germany 1 of 7986 and 1 of 4525 plasma donations tested positive for hepatitis E virus RNA, respectively. 10% of plasma pools tested positive for HEV RNA in Germany.

Since 2012, five cases of chronic hepatitis E transmitted through blood transfusions were diagnosed (out of 367 transplantations) in the Paul Brousse Centre (Villejuif, France) and Créteil liver transplant centre (Créteil, France). Treatment of chronic hepatitis E infection in liver transplant recipients is decreasing immunosuppression and ribavirin. In these patients, eradication of hepatitis E is not always obtained by antiviral drugs, and substantial liver damage might persist, even after viral clearance. Transfusion of blood products not screened for hepatitis E is associated with a risk of chronic hepatitis E infection in immunocompromised patients. Two recombinant hepatitis E vaccines have successfully gone through phase 3 trials, but they are not yet available and their efficacy on hepatitis E genotype 3 is unknown. In view of the prevalence of hepatitis E infection in the general population (and therefore in potential blood donors) and the severe consequences of hepatitis E infection in immunocompromised patients, we believe that systematic screening of blood products for markers of hepatitis E infection should be implemented in countries where hepatitis E is endemic, including Germany, Sweden, and France. Because serological testing is poorly sensitive, hepatitis E nucleic acid testing should be considered.

We declare that we have no conflicts of interest.

Department of Error

Yip F, Cooper S, Salkovits F, et al. Clinical and cost-effectiveness of cognitive behaviour therapy for health anxiety in medical patients: a multicentre randomised controlled trial. Lancet 2014; 383: 219-55. In figure 1 of this Article, the number of patients who declined to participate or did not complete baseline assessments should have been 3935. The figure has been reformatted for publication. This correction has been made to the online version as of Oct 22, 2013, and to the printed Article as of Oct 22, 2013, and to the printed Article.

Published Online October 22, 2013

http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61915-7

Published Online October 25, 2013

http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61915-0

## 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
		2014. 2. 6	該当なし	
一般的名称	新鮮凍結人血漿	Hyams C, Mabayoje DA, Copping R, Maranao D, Patel M, Labbett W, Haque T, Webster DP. <i>J Med Virol.</i> 2014 Mar;86(3):478-83. doi: 10.1002/jmv.23827. Epub 2013 Nov 8.	公表国	
販売名(企業名)	新鮮凍結血漿-LR「日赤」120(日本赤十字社) 新鮮凍結血漿-LR「日赤」240(日本赤十字社) 新鮮凍結血漿-LR「日赤」480(日本赤十字社)	研究報告の公表状況	英国	
研究報告の概要	○サイトメガロウイルス(CMV)及びエプスタインバーウイルス(EBV)との交差反応は急性E型肝炎ウイルス(HEV)感染の診断の障害となる HEV感染はウイルス血症期間が短く、急性感染ではHEV IgM抗体とIgG抗体は同時に上昇する。これまでの研究でHEVは、EBV、CMVとの交差反応によりHEV IgM抗体の偽陽性反応が発生することが報告されており、A型肝炎ウイルス(HAV)との交差反応も示唆されている。 ロンドンの三次医療機関で、3年間にわたるHEV血清学的検査の後方視的分析が行われ、血清サンプル1,423例中HEV IgM抗体33例が陽性、28例が不確定であった。111例がHEV IgG抗体陽性かつIgM抗体陰性であり、過去の感染を示唆していた。HEV IgM抗体陽性患者はいずれもHAVに対する偽陽性反応を示さなかったが、EBV及びCMVとの交差反応は頻繁に確認され、HEV IgM抗体陽性サンプルの33.3%及び24.2%がそれぞれEBV、CMV IgM抗体陽性となった。HEV IgM抗体陽性サンプルのうち13.3%のみがHEV PCRでも陽性になると予測され、血清学的検査の陽性的中率の低さを強く示している。ウイルス性肝炎の診断は、臨床的特徴、トランスアミナーゼ値の上昇、血清学的検査、PCRによる確認検査に基づいて行うべきである。			使用上の注意記載状況・その他参考事項等
	新鮮凍結血漿-LR「日赤」120 新鮮凍結血漿-LR「日赤」240 新鮮凍結血漿-LR「日赤」480			血液を介するウイルス、細菌、原虫等の感染 vCJD等の伝播のリスク
報告企業の意見		今後の対応		
血清学的検査においてHEVとEBV、CMV IgM抗体の交差反応性が示されたとの報告である。		日本赤十字社では、厚生労働科学研究「経口感染によるウイルス性肝炎(A型及びE型)の感染防止、病態解明、遺伝的多様性及び治療に関する研究」班と共同して、献血者におけるHEV感染の疫学調査を行っている。今後もHEV感染の実態に関する情報の収集及び安全対策に努める。		

MedDRA/J Ver.16.1J

## Serological Cross Reactivity to CMV and EBV Causes Problems in the Diagnosis of Acute Hepatitis E Virus Infection

Catherine Hyams, Diana A. Mabayoje,\* Ruth Copping, Desmond Maranao, Mauli Patel, Wendy Labbett, Tanzania Haque, and Daniel P. Webster  
Department of Virology, Royal Free Hospital, London, United Kingdom

Hepatitis E virus (HEV) infection is an important public health concern as a major cause of enterically-transmitted hepatitis worldwide. The detectable window of viraemia is narrow, and HEV IgM and IgG rise simultaneously in acute infection. Furthermore, previous investigators have shown HEV IgM false positive reactions occur against EBV, CMV and potentially hepatitis A. A retrospective analysis of HEV serology testing was performed at a London tertiary referral hospital over a 3-year period. A thousand four hundred and twenty three serum samples were tested for HEV serology, with 33 samples HEV IgM positive and 28 HEV IgM equivocal. One hundred and eleven samples were HEV IgG positive but IgM negative suggesting past infection. No patients with HEV IgM positivity had false positive reactions against hepatitis A. A high degree of EBV and CMV cross reactivity was noted, with 33.3% and 24.2% of HEV IgM positive samples also testing positive for EBV and CMV IgM, respectively. HEV RNA was detected in four HEV IgM positive samples, indicating true positivity, although three demonstrated cross reactivity against EBV. Only 13.3% of samples with positive HEV IgM were HEV PCR positive, highlighting a low positive predictive value of serology testing. Overall a high level of HEV, EBV and CMV IgM cross reactivity was demonstrated, indicating that serology is unreliable in the diagnosis of acute viral hepatitis. It is concluded that the diagnosis of viral hepatitis should be based on clinical features, raised transaminases, serology, and confirmatory PCR testing. *J. Med. Virol.* 86:478-483, 2014. © 2013 Wiley Periodicals, Inc.

**KEY WORDS:** hepatitis E virus; Epstein-Barr virus; cytomegalovirus; serology

© 2013 WILEY PERIODICALS, INC.

Journal of Medical Virology 86:478-483 (2014)

JRC2014T-008

## INTRODUCTION

Hepatitis E virus (Family *Hepadnaviridae*, genus *Hepatitis E virus*) infection is an important public health concern as a major cause of enterically transmitted hepatitis worldwide. Transmission of Hepatitis E virus (HEV) is usually waterborne via the feco-oral route, however, the mammalian virus has a reservoir in pigs and zoonotic foodborne transmission of genotype-3 virus has been shown [Meng et al., 1998; Aggarwal, 2010]. It is endemic in developing countries with poor sanitation and public health structures, accounting for over 50% of acute viral hepatitis [Dalton et al., 2008a; Aggarwal, 2010]. In developed countries, HEV was traditionally considered an imported infection [Schwartz et al., 1999], but with newer molecular tests and increased surveillance, autochthonous (locally-acquired) infections have been identified, establishing HEV as an important clinical problem [Jiaz et al., 2005; Dalton et al., 2008a]. While there are four genotypes of hepatitis E, genotype 1 is usually seen in developing countries while genotype 3 is usually seen in developed countries and does not generally lead to epidemics. Genotype 4 is mainly found in Asia, with swine believed to be an important reservoir of infection [Meng et al., 1998; Schwartz et al., 1999; Jiaz et al., 2005; Lu et al., 2006; Dalton et al., 2008a; Aggarwal, 2010]. The clinical manifestations vary from asymptomatic infection to uncomplicated acute viral hepatitis and fulminant hepatic failure. The disease pathogenesis and reason for

Conflict of interest: none.

All authors contributed to the preparation of this manuscript. \*Correspondence to: Diana A. Mabayoje, Department of Virology, The Royal Free Hospital, Pond Street, Hampstead, London NW3 2QG, United Kingdom.  
E-mail: dmabayoje@hstn.net

Accepted 1 October 2013

DOI 10.1002/jmv.23827

Published online 8 November 2013 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com).

varying disease severity largely remain unknown [Srivastava et al., 2011]. Prognosis can be poor in individuals with underlying chronic liver disease, with mortality approaching 70%, as well as during pregnancy [Dalton et al., 2007; Peron et al., 2007].

In developed countries, HEV seroprevalence is estimated to be 4–25% [Aggarwal and Naik, 1997; Dalton et al., 2008a]. In England, a prevalence of 13.0% in 1991 and 13.5% in 2004 has been found [Ijaz et al., 2009]. However, acute HEV infection incidence is low, raising questions of HEV underdiagnosis, clinically silent presentations or non-specific HEV IgG testing. Diagnosis is based on combining clinical features, elevated liver transaminases, serology, and specific HEV PCR. While various protein constructs have been used in diagnostic assays to detect HEV specific antibodies, the major antigenic target remains the ORF2-encoded protein [Khudyakov and Kamili, 2011]. All four HEV genotypes arise from a single serotype, therefore diagnostic antigens from a single HEV genotype should detect antibody against HEV strains from different genotypes [Emerson and Purcell, 2003]. A classic serological pattern of antibody response to HEV has been found, in which anti-HEV IgM appears during acute illness, is detectable 4 days after the onset of jaundice and persists for up to 5 months [Favorov et al., 1992], with strongly positive reactions rare after 3 months [Dalton et al., 2008b]. Over 90% of HEV infected patients have detectable anti-HEV IgM within 2 weeks of illness onset [Favorov et al., 1992]. The serological appearance of anti-HEV IgM is followed shortly by anti-HEV IgG, so that both may appear to develop simultaneously in acute infection, thereby complicating the serological diagnosis of acute HEV infection. However, HEV IgG persists for longer than anti-HEV IgM and is detectable 1–14 years post infection [Dawson et al., 1992; Khuroo et al., 1993; Bryan et al., 1994]. HEV RNA can be detected in serum using RT-PCR but may be of reduced diagnostic value due to a brief 28-day viraemia period (range 17–48 days) after the onset of symptoms [Dalton et al., 2008b].

Serological testing is hindered by the potential inability to detect HEV IgM and in addition false-positive results have been reported to occur in Herpesvirus infections including Epstein-Barr virus (EBV; Family *Herpesviridae*, genus *Lymphocryptovirus*, species *Human Herpesvirus 4*) and Cytomegalovirus (CMV; Family *Herpesviridae*, genus *Cytomegalovirus*, species *Human cytomegalovirus*) [Fogeda et al., 2009]. Furthermore, potential false-positive reactions have been described in hepatitis A virus (HAV; Family *Picornaviridae*, genus *Hepatovirus*, species *Hepatitis A virus*) infection [Gray et al., 1992]. HEV IgM cross-reactivity between HAV, EBV and CMV is clinically problematic as these viruses form the differential diagnosis for acute hepatitis in such patients. HEV serology testing at a large tertiary referral hospital was therefore evaluated, processing samples from both hospitalized and primary care patients.

## MATERIALS AND METHODS

A retrospective analysis over a 3-year period (July 2009 to August 2012) of patients who underwent HEV serology testing at a large tertiary referral hospital was performed. Serum samples were reflexly tested for HEV serology if the patient serum tested negative for hepatitis A, B and C in the presence of elevated transaminases (ALT > 80 IU/L). Alternatively, patients were also tested under clinical discretion on the basis of a significant travel history or if HEV testing was specifically requested by clinicians. Patients who had undergone laboratory HEV IgM/IgG testing were identified using the pathology patient database.

HEV serology testing was performed using *recomWell* HEV IgM and *recomWell* HEV IgG enzyme immunoassay (MIKROGEN Diagnostik, Neuried, Germany), with equivocal and positive results confirmed using *recomLine* HEV IgG/IgM immunoblot (MIKROGEN Diagnostik). In cases where there was discordance between *recomWell* HEV IgM/HEV IgG and confirmatory *recomLine* HEV IgG/IgM immunoblot testing, results from the latter assay superseded the initial result due to the fact that the immunoblot testing has a higher sensitivity and specificity. HEV IgM positive was classed as >24 U/ml, equivocal as between ≥20 and ≤24 U/ml, and negative being <20 U/ml. EBV IgM EIA was performed on the Liaison platform (DiaSorin, Saluggia, Vicenza, Italy), while HAV and CMV IgM was analysed using EIA on the Abbott Architect i2000SR (Abbott Park, IL). HAV IgM positive was defined as >1.6 U/ml, equivocal ≥0.8 and ≤1.6 U/ml, with negative HAV IgM being <0.8 U/ml. EBV IgM positive was defined as >40 U/ml, equivocal ≥20 and ≤40 U/ml, and negative EBV IgM <20 U/ml. CMV IgM positive was defined as >1.7 U/ml, equivocal ≥0.85 and ≤1.7 U/ml, with negative CMV IgM <0.85 U/ml. Samples which were found to test positive for HEV IgM or for EBV IgM from individuals with elevated transaminases during the last 12 months of the study underwent further serology testing in a reference laboratory at the Health Protection Association at Colindale, using Wantai ELISA (Fortress Diagnostics, Antrim, UK) to evaluate the performance of the laboratory assay.

An in-house reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) testing for HEV was started midway through the study period, using Superscript III RT PCR (Invitrogen, Carlsbad, CA) and HEV forward primer GCC CCG TCA GCC GTC TGG, reverse primer CTG AGA ATC AAC CCG GTC AC, HEV probe FAM-CGG TTC CGG TGG TTT CT-TAMRA. Statistical analysis was performed using GraphPad Software Inc. (San Diego, CA).

## RESULTS

Overall, 1,423 serum samples were tested for HEV IgG and IgM. Of these, 33 (2.3%) samples were IgM

positive and 28 (1.9%) samples were equivocal for IgM. In contrast, 133 (9.3%) samples were IgG positive and 13 (0.9%) samples were equivocal for HEV IgG. Of the IgG positive samples, 111 (83.4%) were negative for IgM, suggesting previous exposure to hepatitis E (Table I) and giving an overall population seroprevalence of 7.8% (111/1,423). About 39.3% of patients with serum which was positive for HEV IgM also had serum which tested positive for HEV IgG (13/33). Of the 17 HEV IgM positive samples which were HEV PCR tested concurrently, four (23.5%) individuals had HEV infection confirmed by PCR. Of note, all of these individuals had significantly deranged liver function tests, with levels of transaminases being at least five times greater than the upper limit of normal. Additionally, a relevant travel history was documented in three out of four of these patients.

Hepatitis A virus (HAV), EBV, and CMV IgM reactivity in patients with reactive HEV IgM serum was investigated. There were no patients who had reactive HEV IgM who simultaneously demonstrated reactivity to HAV IgM laboratory testing (Table II). EBV and CMV IgM testing were not performed in individuals who had previously tested EBV EBNA IgG or CMV IgG positive. Overall a high degree of EBV and CMV IgM cross-reactivity to HEV IgM was demonstrated, with 33.3% (11/33) and 24.2% (8/33) of samples which were HEV IgM positive also showing reactivity to EBV and CMV, respectively (Table II). Similar cross reactivity levels were found in samples which were HEV IgM equivocal, 32.1% (9/28) demon-

strated EBV IgM cross-reactivity and 17.9% (5/28) demonstrating CMV IgM cross-reactivity on laboratory testing (Table II).

HEV IgM serology was found to predict HEV PCR positivity in 13.3% of cases, highlighting the unreliability of HEV IgM testing. HAV IgM cross-reactivity with the HEV IgM EIA assay was not demonstrated, suggesting that false positives reactions using immunofluorescence testing may not be relevant using EIA analysis.

Given the high rates of cross reactivity that were found, all patient samples which had tested negative for EBV VCA IgG and EBNA IgG but positive for EBV IgM over the preceding year were identified. Fifteen samples had concomitant elevated liver enzymes, and these samples were tested for reactivity to CMV and HEV IgM, with HEV PCR also performed on these samples. Fourteen (93.3%) of samples tested positive for CMV IgM, and four (26.7%) for HEV IgM of which all were HEV PCR negative (Table III). Of the four samples which tested positive for both HEV and EBV IgM, three were negative for HEV IgG. No samples which were positive for EBV IgM and had elevated transaminases tested positive using HEV PCR, although this is perhaps not surprising given the fragility of HEV RNA. HEV RNA may have degraded in the ensuing period of time between initial sampling and subsequent PCR testing given that HEV PCR was performed after samples were frozen and defrosted; this would affect the yield of PCR performed retrospectively.

TABLE I. HEV Serology Results

	HEV IgG positive (>24 U/ml)	HEV IgG equivocal (≥20 U/ml, ≤24 U/ml)	HEV IgG negative (<20 U/ml)	Total
HEV IgM positive (>24 U/ml)	13 (10%)	1 (7.7%)	19 (1.5%)	33
HEV IgM equivocal (≥20 U/ml, ≤24 U/ml)	9 (6.9%)	2 (15.4%)	17 (1.3%)	28
HEV IgM negative (≥20 U/ml)	111 (83.4%)	10 (76.9%)	1,241 (97.2%)	1,362
Total	133	13	1,277	1,423

Percentages given represent the proportion of samples based on HEV IgG serology result.

TABLE II. Cross Reactivity of HEV IgM Reactive Samples to HAV, EBV, and CMV IgM Assays

	HEV IgM positive			HEV IgM equivocal		
	HAV	EBV	CMV	HAV	EBV	CMV
IgM positive	0	9 (26.5%)	7 (21.2%)	0	3 (10.7%)	4 (14.3%)
IgM equivocal	0	2 (6.0%)	1 (3.0%)	0	6 (21.4%)	1 (3.6%)
IgM negative	0	12 (35.3%)	16 (48.4%)	0	7 (25.0%)	11 (39.3%)
IgM not tested	0	10 (30.3%)	9 (26.5%)	0	12 (42.9%)	12 (42.9%)
Totals	0	33	33	0	28	28

HAV IgM positive was defined as >1.6 U/ml, equivocal ≥0.8 and ≤1.6 U/ml, with negative HAV IgM being <0.8 U/ml. EBV IgM positive was defined as >40 U/ml, equivocal ≥20 and ≤40 U/ml, and negative EBV IgM <20 U/ml. CMV IgM positive was defined as >1.7 U/ml, equivocal ≥0.85 and ≤1.7 U/ml, with negative CMV IgM <0.85 U/ml. HEV IgM positive was classed as >24 U/ml, with equivocal results being ≥20 and ≤24 U/ml.

TABLE III. Cross Reactivity of Samples That Were EBV IgM Positive With Elevated Liver Enzymes Against HEV and CMV IgG

	CMV IgG	HEV IgG
IgG positive	1 (6.7%)	4 (26.7%)
IgG equivocal	5 (33.3%)	0
IgG negative	9 (60%)	11 (73.3%)
Total	15	15
HEV PCR Positive	—	0

HEV IgM positive was classed as >24 U/ml, equivocal as ≥20 and ≤24 U/ml, and negative being <20 U/ml. CMV IgM positive was defined as >1.7 U/ml, equivocal ≥0.85 and ≤1.7 U/ml, with negative CMV IgM <0.85 U/ml.

Although there is no current universally accepted "gold standard" for hepatitis E serology testing, in order to demonstrate the reproducibility of the HEV serology testing performed at the investigating center, samples were sent to a reference laboratory for further HEV serology profiling. The reference laboratory in question employed the use of a Wantai ELISA which has been compared to Western blots and other commercially available assays in population-based studies and has been found to be highly sensitive. [Zhang et al., 2003; Li et al., 2006; Bendall et al., 2010]. Zhang et al. [2003] propose that the peptides used in the Wantai ELISA may form dimers which have a stronger reaction with HEV-reactive sera than the monomeric antigens used in other assays, thereby conferring an increased sensitivity. Samples which tested negative for both HEV IgM and IgG demonstrated 100% agreement between the original laboratory testing result and the reference laboratory result. However, it was found that two samples which tested positive for HEV IgM (22.2%) and four which tested positive for HEV IgG (40%) tested negative using the reference laboratory assay. As mentioned in the methods, all samples underwent HEV serology testing with enzyme immunoassay testing which was then confirmed using immunoblot testing if initial testing demonstrated an equivocal or positive result. Of 269 samples that underwent confirmatory testing for HEV IgM or IgG antibody 13 (4.8%) had discordant results between the initial enzyme immunoassay testing and confirmatory immunoblot testing, indicating a rate of concordance of 95.2% between the initial and confirmatory assays used in this study.

It was then investigated whether elevated transaminases were more likely to be found in patients who had HEV IgM reactive serum. There was no statistical difference in the value of transaminases between patients who were strongly reactive or those whose serum tested equivocal. However, higher levels of both ALT and AST were more likely to be found in patients whose serum was reactive for both HEV IgM and IgG in comparison to patients with serum which was reactive for only HEV IgM (Fig. 1). Patients who

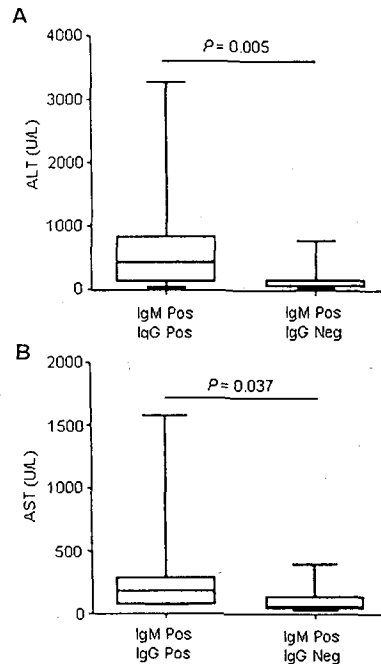


Fig. 1. Level of transaminases detected in patient serum. Levels of (A) ALT and (B) AST recorded at the time of presentation in patients who tested positive for HEV IgM and IgG in comparison to patients who tested positive for HEV IgM alone. *P*-values represent the results of Mann-Whitney *U* tests.

tested positive for both HEV IgM and IgG had a median ALT of 446 U/L and AST of 205 U/L, whereas individuals whose serum was reactive only to HEV IgM had a median ALT of 84 U/L and AST of 66 U/L.

## DISCUSSION

Hepatitis E is both an imported infection and an autochthonous disease in developed countries [Aggarwal and Naik, 1997; Schwartz et al., 1999; Ijaz et al., 2005; Dalton et al., 2008a]. Diagnosis is based upon combining clinical features with laboratory testing, which includes identifying elevated transaminases, testing for specific HEV IgM in serum or by detecting HEV genome sequences by RT-PCR. Performing HEV RNA testing is generally unavailable in most hospitals worldwide, and hence the accuracy of laboratory-based diagnosis depends on the specificity of enzyme-immunoassay or recombinant immunoblot against HEV IgM.

Previous investigators have shown that acute infection with EBV and CMV cause false reactivity to anti-HEV IgM in laboratory tests [Fogeda et al., 2009; Ghinoiu et al., 2009]. This study demonstrates a similar level of cross-reactivity against EBV IgM as that found by Fogeda et al. [2009], although it detected a significantly higher level of false-positive reactions with CMV IgM. Even with samples reactive enough to be termed positive for HEV IgM, it was found that 33.3% of samples also tested positive for EBV IgM and 24.2% for CMV IgM. Since all four genotypes of HEV belong to a single serotype, diagnostic antigens from a single serotype should detect antibody against HEV strains of different genotypes. Proteins derived from serotype 1 and 2 may be differently immunoreactive with sera from anti-HEV positive serum [Dawson et al., 1992], indicating that the variation in protein structure of HEV strains does indeed affect detection of anti-HEV activity in serum samples [Khudyakov and Kamili, 2011]. Differences in HEV strain and therefore sequence heterogeneity may account for the difference in results between this study and that of previous researchers [Fogeda et al., 2009; Ghinoiu et al., 2009].

This study found a level of cross-reactivity in serology testing for HEV, CMV, and EBV specific IgM that is concerning, given that in a jaundiced patient the presence of anti-HEV IgM along with rising titres of anti-HEV IgG would be considered diagnostic of acute HEV infection. Furthermore, polyclonal stimulation of memory B-cell clones and immunological cross-reactivity are known problems for the diagnosis of acute viral disease involving human herpes viruses [Karner and Bauer, 1994; Thomas et al., 1999]. This would be expected to be clinically relevant, given that HEV, CMV, and EBV constitute a large component of the differential diagnosis of acute viral hepatitis once HAV is excluded. Since liver involvement is not rare in EBV and CMV infection, HEV-induced acute hepatitis may be incorrectly diagnosed as being due to CMV or EBV infection if the diagnosis is not confirmed by molecular tests. Given the narrow period of viraemia in HEV infection, the diagnostic value of RT-PCR against HEV RNA is reduced, and this may further compound the difficulty in making an accurate laboratory diagnosis. Additionally, of the four samples which tested HEV positive using PCR, three were reactive for EBV IgM, demonstrating that HEV infection can result in false positive acute EBV serology. Hence EBV and possibly CMV serology alone may result in missed instances of HEV infection. This may provide an explanation for the high seroprevalence of HEV IgG but low clinical incidence of HEV infection, with cases of HEV being misdiagnosed as EBV or CMV infection, in addition to cases of subclinical infection.

Antibody avidity has been used in the diagnosis of many infections including hepatitis E [Prince and

Wilson, 2001; Zhang et al., 2002; Kneitz et al., 2004]. Low avidity IgG antibodies are usually produced early in primary infection, and are then replaced by IgG antibodies with a higher avidity during convalescence. Antibodies produced during re-infection are typically of high avidity. IgG avidity could therefore be of use in determining the cause of an acute hepatitis in a patient who had serum which tested negative for HEV IgM, or which tested positive against multiple viruses. Antibody avidity testing was not performed on samples that tested positive for HEV, CMV, or EBV IgG. Previous evaluations of serological assays specific to IgM antibodies against HEV have been performed, some using serum samples from patients infected from different HEV genotypes [Seriwatana et al., 2002; Yu et al., 2003; Drobeniuc et al., 2010]. Different immunoassays have been shown to have varying diagnostic sensitivity values [Drobeniuc et al., 2010]. When compared with the assay used at a UK reference laboratory, the local assay demonstrated a strong negative predictive value, with no discordance seen in negative samples. However a discordance rate of 22.2% was found for HEV IgM positive and 40% for HEV IgG positive samples when taking the reference laboratory assay into account, raising the possibility that these results were false positive. It is important to note that although the assay used by the reference laboratory is known to have a high specificity and sensitivity for HEV IgG in population-wide seroprevalence studies, its applicability as a reference test for diagnosis of acute hepatitis E is less clear [Zhang et al., 2003; Li et al., 2006; Bendall et al., 2010]. This result is in keeping with those of previous investigators who have demonstrated that there is some variability in the HEV positivity rates found with different serological tests [Seriwatana et al., 2002; Yu et al., 2003; Drobeniuc et al., 2010]. These results highlight the need for standardisation of HEV serological diagnosis in light of the various commercial assays in use.

A statistically significant elevation of both ALT ( $P=0.0005$ ) and AST ( $P=0.037$ ) was demonstrated in individuals who tested positive for both HEV IgM and IgG in comparison to those who tested positive for HEV IgM alone. The median ALT level found in patients testing positive for HEV IgM and IgG was five times greater than those who tested positive for IgM alone, with AST being three times greater. This suggests that individuals who test positive for HEV IgM and IgG are more likely to have a significant increase in their level of serum transaminases, representing a more severe hepatitis. It is therefore suggested that HEV serology testing should be interpreted in combination with elevation of transaminases in patients with suspected HEV hepatitis.

In conclusion HEV IgM serology was found to be of limited value given high false-positive reaction rates with EBV and CMV IgM, low levels of associated HEV PCR confirmed infections, and the inability of HEV IgG to exclude acute infection. One approach

would be performing EBV, CMV, and HEV PCR to confirm positive serology in all patients with possible viral hepatitis. This may be limited by the additional cost of performing PCR, and given the self-limiting nature of CMV, EBV, and HEV infection PCR testing would not necessarily alter clinical outcome. Overall the authors suggest that HEV diagnosis remains a significant virological challenge, and should combine clinical features, travel history, elevated liver enzymes, serology, and PCR analysis where appropriate.

## REFERENCES

- Aggarwal R. 2010. The global prevalence of hepatitis E virus infection and susceptibility: A systematic review. Immunization, Vaccines and Biologicals. Geneva, Switzerland: WHO/IVB/10, p 14.
- Aggarwal R, Naik SR. 1997. Epidemiology of hepatitis E: Past, present and future. *Trop Gastroenterol* 18:49-56.
- Bendall R, Ellis V, Ijaz S, Ali R, Dalton H. 2010. A comparison of two commercially available anti-HEV IgG kits and a re-evaluation of anti-HEV IgG seroprevalence data in developed countries. *J Med Virol* 82:799-805.
- Bryan JP, Tsarev SA, Iqbal M, Ticehurst J, Emerson S, Ahmed A, Duncan J, Rafiqi AR, Malik IA, Purcell RH. 1994. Epidemic hepatitis E in Pakistan: Patterns of serologic response and evidence that antibody to hepatitis E virus protects against disease. *J Infect Dis* 170:517-521.
- Dalton HR, Hazeldine S, Banks M, Ijaz S, Bendall R. 2007. Locally acquired hepatitis E in chronic liver disease. *Lancet* 369:1260.
- Dalton HR, Bendall R, Ijaz S, Banks M. 2008a. Hepatitis E: An emerging infection in developed countries. *Lancet Infect Dis* 8:698-709.
- Dalton HR, Stablesforth W, Thurairajah P, Hazeldine S, Remnarace R, Usama W, Farrington L, Hamad N, Sieberhagen C, Ellis V, Mitchell J, Hussaini SH, Banks M, Ijaz S, Bendall RP. 2008b. Autochthonous hepatitis E in Southwest England natural history, complications and seasonal variation, and hepatitis E virus IgG seroprevalence in blood donors, the elderly and patients with chronic liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 20:784-790.
- Dawson GJ, Chau KH, Cabal CM, Yarbough PO, Reyes GR, Mushahwar IK. 1992. Solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay for hepatitis E virus IgG and IgM antibodies utilizing recombinant antigens and synthetic peptides. *J Virol Methods* 38:175-186.
- Drobeniuc J, Meng J, Reuter C, Greene-Montfort T, Khudyakova N, Dimitrova Z, Kamili S, Teo CG. 2010. Serologic assays specific to immunoglobulin M antibodies against hepatitis E virus: Pangenotypic evaluation of performances. *Clin Infect Dis* 51:24-27.
- Emerson SU, Purcell RH. 2003. Hepatitis E virus. *Rev Med Virol* 13:145-154.
- Favorov MD, Fields HA, Purdy MA, Yashina TL, Aleksandrov AG, Alter MJ, Yarashova DM, Bradley DW, Margolis HS. 1992. Serologic identification of hepatitis E virus infections in epidemic and endemic settings. *J Med Virol* 36:246-250.
- Fogeda M, de Ory F, Avellon A, Echevarria JM. 2009. Differential diagnosis of hepatitis E virus, cytomegalovirus and Epstein-Barr virus infection in patients with suspected hepatitis E. *J Clin Virol* 45:259-261.
- Ghinoiu M, Naveau S, Barri-Ova N, Thaury J, Grangent-Keros L, Perlemuter C. 2009. Acute hepatitis E infection associated with a false-positive serology against Epstein-Barr virus. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 21:1433-1435.
- Gray JJ, Caldwell J, Sillis M. 1992. The rapid serological diagnosis of infectious mononucleosis. *J Infect* 25:39-46.
- Ijaz S, Arnold E, Banks M, Bendall RP, Cramp ME, Cunningham R, Dalton HR, Harrison TJ, Hill SF, Macfarlane L, Meigh RE, Shaif S, Sheppard MJ, Smithson J, Wilson MP, Teo CG. 2005. Non-travel-associated hepatitis E in England and Wales: Demographic, clinical, and molecular epidemiological characteristics. *J Infect Dis* 192:1166-1172.
- Ijaz S, Vyse AJ, Morgan D, Pebody RG, Tedder RS, Brown D. 2009. Indigenous hepatitis E virus infection in England more common than it seems. *J Clin Virol* 44:272-276.
- Karner W, Bauer G. 1994. Activation of a varicella-zoster virus-specific IgA response during acute Epstein-Barr virus infection. *J Med Virol* 44:258-262.
- Khudyakov Y, Kamili S. 2011. Serological diagnostics of hepatitis E virus infection. *Virus Res* 161:84-92.
- Khuroo MS, Kamili S, Dar MY, Moeckli R, Jameel S. 1993. Hepatitis E and long-term antibody status. *Lancet* 341:1355.
- Kneitz RH, Schubert J, Tollmann F, Zens W, Hedman K, Weissbrich B. 2004. A new method for determination of varicella-zoster virus immunoglobulin G avidity in serum and cerebrospinal fluid. *BMC Infect Dis* 4:33.
- Li RC, Ge SX, Li YP, Zheng YJ, Nong Y, Guo QS, Zhang J, Ng MH, Xia NS. 2006. Seroprevalence of hepatitis E virus infection, rural southern People's Republic of China. *Emerg Infect Dis* 12:1682-1688.
- Lu L, Li C, Hagedorn CH. 2006. Phylogenetic analysis of global hepatitis E virus sequences: Genetic diversity, subtypes and zoonosis. *Rev Med Virol* 16:5-36.
- Meng XJ, Halbur PG, Shapiro MS, Govindarajan S, Bruna JD, Mushahwar IK, Purcell RH, Emerson SU. 1998. Genetic and experimental evidence for cross-species infection by swine hepatitis E virus. *J Virol* 72:9714-9721.
- Peron JM, Bureau C, Poirson H, Mansuy JM, Alric L, Selves J, Dupuis E, Izopet J, Vinel JP. 2007. Fulminant liver failure from acute autochthonous hepatitis E in France description of seven patients with acute hepatitis E and encephalopathy. *J Viral Hepat* 14:298-303.
- Prince HE, Wilson M. 2001. Simplified assay for measuring *Toxoplasma gondii* immunoglobulin G avidity. *Clin Diagn Lab Immunol* 8:904-908.
- Schwartz E, Jenks NP, Van Damme P, Galun E. 1999. Hepatitis E virus infection in travelers. *Clin Infect Dis* 29:1312-1314.
- Seriwatana J, Shrestha MP, Scott RM, Tsarev SA, Vaughn DW, Myint KS, Innis BL. 2002. Clinical and epidemiological relevance of quantitating hepatitis E virus-specific immunoglobulin M. *Clin Diagn Lab Immunol* 9:1072-1078.
- Srivastava R, Aggarwal R, Sachdeva S, Alam MI, Jameel S, Naik S. 2011. Adaptive immune responses during acute uncomplicated and fulminant hepatitis E. *J Gastroenterol Hepatol* 26:306-311.
- Thomas HI, Barrett E, Hesketh LM, Wynne A, Morgan-Capner P. 1999. Simultaneous IgM reactivity by EIA against more than one virus in measles, parvovirus B19 and rubella infection. *J Clin Virol* 14:107-118.
- Yu C, Engle RE, Bryan JP, Emerson SU, Purcell RH. 2003. Detection of immunoglobulin M antibodies to hepatitis E virus by class capture enzyme immunoassay. *Clin Diagn Lab Immunol* 10:579-586.
- Zhang JZ, Im SW, Lau SH, Chau TN, Lai ST, Ng SP, Pairis M, Tse C, Ng TK, Ng MH. 2002. Occurrence of hepatitis E virus IgM, low avidity IgG serum antibodies, and viremia in sporadic cases of non-A, -B, and -C acute hepatitis. *J Med Virol* 66:40-48.
- Zhang J, Ge SX, Huang GY, Li SW, He ZQ, Wang YB, Zheng YJ, Cu Y, Ng MH, Xia NS. 2003. Evaluation of antibody-based and nucleic acid-based assays for diagnosis of hepatitis E virus infection in a rhesus monkey model. *J Med Virol* 71:518-526.



医薬品  
医薬部外品 研究報告 調査報告書  
化粧品

識別番号・報告回数		報告日	第一報入手日 2014年01月07日	新医薬品等の区分	厚生労働省処理欄
一般名称	①②③④⑤⑥⑦⑧⑨⑩ pH4 処理酸性人免疫グロブリン ④⑤⑥⑦⑧⑨ ポリエチレングリコール処理人免疫グロブリン ⑩ 人免疫グロブリン			公表国 フランス; スペイン; ドイツ	
販売名 (企業名)	① 日赤ポリグロビン N5% 静注 0.5g/10mL (日本血液製剤機構) ② 日赤ポリグロビン N5% 静注 2.5g/50mL (日本血液製剤機構) ③ 日赤ポリグロビン N5% 静注 5g/100mL (日本血液製剤機構) ④ 献血グロブリン IH5% 静注 0.5g/10mL (日本血液製剤機構) ⑤ 献血グロブリン IH5% 静注 1g/20mL (日本血液製剤機構) ⑥ 献血グロブリン IH5% 静注 2.5g/50mL (日本血液製剤機構) ⑦ 献血グロブリン IH5% 静注 5g/100mL (日本血液製剤機構) ⑧ 献血グロブリン IH5% 静注 10g/200mL (日本血液製剤機構) ⑨ 献血グロブリン IH 注 (日本血液製剤機構) ⑩ 日赤ポリグロビン N10% 静注 5g/50mL (日本血液製剤機構) ⑪ 日赤ポリグロビン N10% 静注 10g/100mL (日本血液製剤機構) ⑫ グロブリン筋注 450mg/3mL「ベネクス」 (日本血液製剤機構) ⑬ グロブリン筋注 1500mg/10mL「ベネクス」 (日本血液製剤機構)	研究報告の 公表状況	Emerging Infectious Diseases・www.cdc.gov/eid 2014; 20(i): 114-117		
研究報告の 概要	<p>ヒトのクロイツフェルト・ヤコブ病 (CJD) の発症率は低く (年間 100 万人当たり 1 人程度)、孤発性 (sCJD) または家族性/遺伝性 (fCJD) がある。家族性 CJD はプリオン蛋白遺伝子 (Prnp) の変異が関与しているが、孤発性 CJD の明確な疫学リスク因子は特定されていない。sCJD は臨床的および神経病理的に一律的な表現型を示す疾患ではない。sCJD は、プロテアーゼ耐性プリオン蛋白 (PrP) 配列のコドン 129 の多型 (メチオニン/バリン) および異常 PrP (PrPres) のプロテアーゼ K 耐性コアの電気泳動パターンに応じて、タイプ 1 またはタイプ 2 のいずれかに分類される。sCJD のタイプ 1 およびタイプ 2 は、別の伝達性海綿状脳症 (TSE) の感染物質が関与していると考えられている。</p> <p>病原性 CJD は比較的稀であるものの、過去 60 年間で数百件が特定されている。患者の血液分画をげっ歯類の脳内に接種したところ、sCJD 患者の血液中に感染因子が存在したとのデータがいくつか報告されている。こうした観察は、他の研究で確認されていないため、確実なものではない。</p> <p>1996 年には、新たなタイプの CJD がヒトで特定され、変異型 CJD (vCJD) と命名された。vCJD は、ウシの牛海綿状脳症を起こす原因物質に起因することが示された。英国では、後に vCJD 検査で陽性であることが判明したドナーによる非白血球除去赤血球濃縮製剤の輸血で、vCJD 感染 4 件 (臨床例 3 人、無症候例 1 人) が起きた可能性が報告された。さらに最近では、vCJD 診断があったドナーによる複数のユニットを含めて、血漿分画製剤を輸血された血友病患者で、vCJD 感染したと推定される症例がさらに英国で報告された。vCJD の血液感染を示す疫学エビデンスはあるものの、従来のげっ歯類モデルを用いたバイオアッセイでは、血液中の感染因子の存在を突き止めることはできなかった。従来のげっ歯類モデルで TSE 伝播が認められないことは、vCJD および sCJD 患者の血液中では感染因子濃度が低いためであるか (ヒツジおよびげっ歯類の TSE モデルで記載される通り)、種間バリアがあるために動物モデルへのヒトプリオンの伝播が制限されていることが原因であろうと思われる。他の動物種の PrP を発現する種間バリアがないトランスジェニックマウスモデルを用いた過去 10 年間の研究から、現在では、低濃度の感染因子が検出できる可能性が示されている。</p> <p>本研究では、vCJD または sCJD の TSE 感染因子への感受性が高い 2 種類のトランスジェニックマウスモデルを用いて、vCJD および sCJD 患者の血液分画に含まれる感染価を推定した。英国、ドイツ、フランスの法律に従い、ヒト検体の利用を含む実験プロトコルが英国では</p>			使用上の注意記載状況・ その他参考事項等	
	<p>代表として献血グロブリン IH5% 静注 0.5g/10mL の記載を示す。</p> <p>2. 重要な基本的注意</p> <p>(1) 略</p> <p>1) 略</p> <p>2) 現在までに本剤の投与により変異型クロイツフェルト・ヤコブ病 (vCJD) 等が伝播したとの報告はない。しかしながら、製造工程において異常プリオンを低減し得るとの報告があるものの、理論的な vCJD 等の伝播のリスクを完全に排除できないので、投与の際には患者への説明を十分行い、治療上の必要性を十分検討の上投与すること。</p>				

グロブリン

医薬品  
医薬部外品 研究報告 調査報告書  
化粧品

<p>National CJD Research &amp; Surveillance Unit tissue bank, ドイツでは REC reference number 2000/4/157-German TSE reference center, フランスでは Ref Nr 11/11/93, PHRC ref2004-D50-353 で承認された。</p> <p><b>本研究の詳細</b></p> <p>ウシ PrP (tgBov) を過剰発現するトランスジェニックマウスは、牛海綿状脳症の原因物質の検出に高感受性であることが、過去の研究で報告されている。tgBov は vCJD 感染にも高い感受性を有することを示すため、本モデル (Tg110) を用いて、脳内接種により vCJD 単離物 (10% 脳ホモジネート) をエンドポイントまで希釈した。sCJD の原因と考えられている TSE 感染因子は多様である可能性を考え、PRP 遺伝子のコドン 129 がメチオニンのホモ接合であるタイプ 1 (MM1) のみを対象とした。ヒト PrP 遺伝子の 129 メチオニン型を発現するマウスモデル (tgHu: Tg340) を用いて、sCJD MM1 の 10% 脳ホモジネートをエンドポイント希釈した。これにより、tgBov および tgHu モデルにおいて、それぞれ vCJD および sCJD MM1 の感染因子について、基準脳ホモジネートの 10-6 倍希釈までの検出能が確認できた (表 1; 13)。この値は、種々の TSE 動物モデルで報告されている脳/血液の相対的感染性の範囲内である。</p> <p>次の手順として、vCJD 確定患者 1 人の血液分画 (赤血球、血漿、白血球) を tgBov マウスの脳内に注射した。同じく、sCJD MM1 患者 4 人の血漿サンプルを tgHu に接種した (表 2)。血液分画製剤は、研究室規模の血液学的プロトコル (online Technical Appendix, wwwnc.cdc.gov/EID/article/20/1/13-0353-Techappl.pdf) で準備し、血液銀行が採用する手順は採用しなかった。この手法では、vCJD の血液感染リスクを抑制するために大半の国で血液変性製品に採用される白血球除去を実施しないことになる。sCJD 患者 4 人の脳組織サンプルも tgHu に接種した。培養期間 (表 2) およびパラフィン包埋組織プロットで評価した場合の脳における PrPres 分布パターンを基準とすると、こうした単離物の TSE 感染因子は、エンドポイント希釈した sCJD MM1 患者のものとは識別できなかった (図、パネル A)。</p> <p>リン酸緩衝食塩水または健康人対照の脳および血漿を接種した tgBov または tgHu マウスでは、TSE の臨床徴候または PrPres 蓄積は観察されなかった。vCJD 患者の血液分画 3 品は陽性であったが、tgBov マウスでは出現率は低かった (表 2)。こうした結果から、赤血球および血漿中の感染性は、接種量 (ID) / mL であると推定された。白血球では、感染価は全血の 2.23 ID/mL であると推定された。こうした値とサンプルのヘマトクリット (online Technical Appendix) から、患者の全血の総感染価は 4.45 ID/mL 程度であると思われた。こうした感染性レベルは、エンドポイント希釈した基準 vCJD 脳サンプルの 1.4 μg にほぼ等しい (表 1)。</p> <p>tgHu マウスでは、血漿サンプル 4 品中 2 品を接種したマウスで伝播があった (表 2)。伝播があった両血漿サンプルの感染価は、それぞれ 2.12 ID/mL および 3.71 ID/mL であると推定され、これはエンドポイント希釈した基準 sCJD MM1 脳サンプルの 0.3~0.5 μg に相当する (表 1)。しかしながら、接種マウス数は少なく (n=24)、アッセイの全体的感受性も限定的 (上限 CI 限界、6.24 ID/mL) であったため、他の血漿サンプル 2 品を接種されたマウスでは伝播がなかった、と確実に結論付けられるものではない。</p> <p>vCJD を接種した tgBov、sCJD を接種した tgHu では、脳ホモジネートおよび血液成分で誘発した動物のウェスタンブロットで観察された PrPres バンドパターンは、同じであった (図、パネル C、D)。これらの結果から、tgBov マウスと tgHu マウスに伝播された TSE 感染因子は、それぞれ vCJD および sCJD の感染因子であったとの主張が支持される。</p> <p><b>結 論</b></p> <p>本稿で報告したデータから、vCJD 患者から得た赤血球、白血球、血漿中に感染因子の存在が確認され、すべてではないが一部の sCJD 患者から得た血漿中に感染因子の存在が明確に示されている。vCJD および sCJD の血液成分で測定された感染性レベルは、種々の TSE 動物モデルで報告されたレベルと一致していた。本研究の症例数は限定的であり、新たな実験では、これよりも多くの症例を対象として、sCJD 患者の種々の血液分画を用いて、本データを洗練する必要があろう。しかしながら、以上の結果からは、sCJD および vCJD のヒト間血液伝播リスクの詳細に大きな知見が示されている。</p>
---

グロブリン

医薬品  
医薬部外品 研究報告 調査報告書  
化粧品

報告企業の意見	今後の対応	
<p>従来、sCJDの血液を介した伝播の可能性は低いと見られてきたが、sCJD患者の血液にも感染因子の存在が明確に示されたとする報告である。</p> <p>血漿分画製剤は理論的なvCJD伝播リスクを完全に排除できないため、投与の際には患者への説明が必要である旨を2003年5月から添付文書に記載している。2009年2月17日、英国健康保護庁(HPA)はvCJDに感染した供血者の血漿が含まれる原料から製造された第Ⅷ因子製剤の投与経験のある血友病患者一名から、vCJD異常プリオン蛋白が検出されたと発表した。日本血液製剤機構の原料血漿採取国である日本及び米国では、欧州滞在歴のある献(供)血希望者を一定の基準で除外している。また、第81回国際獣疫事務局(OIE)総会(2013年5月)により、我が国が「無視できるBSEリスク」の国に認定されたことから、原料血漿中に異常型プリオン蛋白が混入するリスクは1999年以前の英国に比べて極めて低いと考える。なお、本剤の製造工程においてプリオンが低減される可能性を検討するための実験を継続して進めているところである。</p>	<p>本報告は本剤の安全性に影響を与えないと考えるので、特段の措置はとらない。</p> <p>今後とも同様の情報収集に努める。</p>	

# Detection of Infectivity in Blood of Persons with Variant and Sporadic Creutzfeldt-Jakob Disease

Jean Yves Douet, Saima Zafar, Armand Perret-Liaudet, Caroline Lacroux, Séverine Lukan, Naima Aron, Herve Cassard, Claudia Ponto, Fabien Corbière, Juan María Torres, Inga Zerr, and Olivier Andreoletti

We report the presence of infectivity in erythrocytes, leukocytes, and plasma of 1 person with variant Creutzfeldt-Jakob disease and in the plasma of 2 in 4 persons whose tests were positive for sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. The measured infectivity levels were comparable to those reported in various animals with transmissible spongiform encephalopathies.

Among humans, Creutzfeldt-Jakob disease (CJD) is a low incidence disease (≈1 case per million per year) that occurs as either a sporadic (sCJD) or a familial/genetic (fCJD) form. Whereas familial disease forms are linked to a mutation in the prion protein gene (*Prnp*), no clear epidemiologic risk factors have been identified for sporadic disease forms. sCJD is not a uniform disorder in terms of clinical and neuropathological phenotype. sCJD cases are classified as type 1 or 2 according to the polymorphism at codon 129 of the protease-resistant prion protein (PrP) sequence (methionine/valine) and to the electromobility of the proteinase K-resistant core of the abnormal PrP (PrP<sup>Sc</sup>) (1). Type 1 and type 2 isoforms in sCJD are believed to correspond to different transmissible spongiform encephalopathy (TSE) agents

Author affiliations: Institut National de la Recherche Agronomique/Ecole Nationale Vétérinaire, Toulouse, France (J.Y. Douet, C. Lacroux, S. Lukan, N. Aron, H. Cassard, F. Corbière, O. Andreoletti); National Reference Center for Transmissible Spongiform Encephalopathy, Georg August University, Göttingen, Germany (S. Zafar, C. Ponto, I. Zerr); Hospices Civils de Lyon, France (A. Perret-Liaudet); BioRan, Bron, France (A. Perret-Liaudet); and Centro de Investigación en Sanidad Animal, Madrid, Spain (J.M. Torres)

DOI: <http://dx.doi.org/10.3201/eid2001.130353>

Despite their relative rarity, several hundred iatrogenically transmitted CJD cases were identified during the past 60 years (2). Some data supporting the presence of infectivity in the blood of sCJD-affected patients were reported following the intracerebral inoculation of blood fractions from affected patients into rodents. These observations remain ambiguous because other studies did not confirm them (3,4).

In 1996, a new form of CJD, named variant CJD (vCJD), was identified in humans. Variant CJD was demonstrated to be caused by the agent that causes bovine spongiform encephalopathy in cattle (5). In the United Kingdom, 4 vCJD transmissions (3 clinical cases and 1 asymptomatic infection) were probably caused by the transfusion of non-leuco-depleted erythrocyte concentrates prepared from donors who later had positive test results for vCJD (6). More recently, a presumed additional case of vCJD infection was reported in the United Kingdom in a hemophilic patient who had received fractionated plasma products, including some units linked to a donor who had vCJD diagnosed (7). Despite the epidemiologic evidence of bloodborne transmission in vCJD, bioassays performed on conventional rodent models failed to demonstrate the presence of infectivity in the blood (8). The lack of TSE transmission in conventional rodent models could be a consequence of a low infectivity level in blood from vCJD- and sCJD-affected patients (as described in sheep and rodent TSE models) (9) or of the existence of the species barrier phenomenon that limits the transmission of human prions to these animal models. The development during the last decade of transgenic mice models expressing PrP from others species that abrogate the species barrier now offers the potential to detect low level of infectivity (10).

In this study, we used 2 transgenic mouse models that displayed a high sensitivity to the vCJD or sCJD TSE agents to estimate the infectious titer in certain blood fractions from vCJD- and sCJD-affected patients. According to legislation of the United Kingdom, Germany, and France, the experimental protocol, including the use of human samples, was approved by UK National CJD Research & Surveillance Unit tissue bank: REC reference number 2000/4/157-German TSE reference center: Ref Nr 11/11/93, PHRC ref 2004-D50-353 for patient from France.

## The Study

Previous studies reported a high sensitivity in transgenic mice overexpressing bovine PrP (tgBov) for the detection of the bovine spongiform encephalopathy agent. To demonstrate that tgBov also displays a high sensitivity to vCJD infection, we titrated to endpoint a vCJD isolate (10% brain homogenate) by intracerebral inoculation in this model (Tg110) (11). Considering the potential diversity

Table 1. Titration of sCJD and vCJD isolates in transgenic mice expressing the human or bovine prion protein\*†

Dilution	sCJD MM1 in tgHu		vCJD in tgBov	
	Positive transmission in mice	Incubation period, d	Positive transmission in mice	Incubation period, d
Not diluted	6/6	186 ± 10	6/6	249 ± 2
10 <sup>-1</sup>	6/6	213 ± 15	6/6	283 ± 15
10 <sup>-2</sup>	6/6	240 ± 13	6/6	316 ± 21
10 <sup>-3</sup>	6/6	263 ± 24	6/6	342 ± 10
10 <sup>-4</sup>	6/6	296 ± 26	6/6	453 ± 66
10 <sup>-5</sup>	6/6	323 ± 29	4/6	499 ± 17
10 <sup>-6</sup>	1/6	316	1/6	502
10 <sup>-7</sup>	0/6	>650	0/6	>700
Infectious titer, ID <sub>50</sub> /g of brain (95% CI)	10 <sup>6.67</sup> (10 <sup>6.33</sup> –10 <sup>6.97</sup> )		10 <sup>6.33</sup> (10 <sup>5.84</sup> –10 <sup>6.82</sup> )	

\*sCJD, sporadic Creutzfeldt-Jakob disease; tgHu, human PrP gene; PrP, protease-resistant prion protein; vCJD, variant CJD; tgBov transgenic mice overexpressing bovine PrP; ID<sub>50</sub>, infectious dose.

†Successive 1/10 dilutions of 10% brain homogenate (frontal cortex) from patients affected by vCJD and sCJD were injected intracerebrally to tgHu (n = 6) and tgBov (n = 6) mice, respectively. Those 2 patients were different from the 1 whose blood was tested in bioassay (Table 2). Mice were euthanized when they showed clinical signs of infection or after 650 days postinfection. Mice were considered infected when abnormal prion protein deposition was detected in the brain by western blot by using Sha31 monoclonal antibody, which recognizes amino acids 145–152 (YEDRYRRE) of the sheep prion protein. Infectious titers were estimated by the Spearman-Kärber method (14).

of TSE agents that may cause sCJD, we decided to focus only on type 1 homozygous for methionine at codon 129 of the PRP gene (MM1) sCJD cases. An endpoint titration of a MM1 sCJD 10% brain homogenate was performed in a mouse model that express the methionine 129 variant of the human PrP gene (tgHu:Tg340) (12). This enabled confirmation of the capacity of the tgBov and tgHu models to detect the vCJD and sCJD MM1 agent, respectively, up to a 10<sup>-6</sup>

dilution of the reference brain homogenates (Table 1; 13). This value was within the range of the brain/blood relative infectivity reported in various TSE animal models (9,14).

In the next step of our experiment, blood fractions (erythrocytes, plasma, and leukocytes) from 1 vCJD-confirmed patient were injected intracerebrally in tgBov mice. Similarly, plasma samples from 4 sCJD MM1 patients were inoculated with tgHu (Table 2). The blood fraction

Table 2. Intracerebral inoculation of blood components collected from 1 vCJD and 4 sCJD cases (MM1) in transgenic mice expressing the bovine or human prion protein gene\*†

Mouse model	Donor	Specimen	Inoculated mice	Positive mice	Incubation period, d	ID/mL (95%CI)‡	
tgBov	vCJD	Leukocyte	24	3	476, 567, 576	2.23 (0–4.87)	
		Plasma	24	1	453	2.12 (0–6.52)	
		Erythrocyte	24	1	433	2.12 (0–6.52)	
tgHu	sCJD case 1	Plasma	14§	1	338	3.70 (0–11.65)	
		Brain	6	6	216 ± 2	NA	
		Brain	6	6	217 ± 5	NA	
		Plasma	24	0	>700	0 (0–6.24)	
	sCJD case 2	Brain	6	6	205 ± 5	NA	
		Plasma	24	1	233	2.12 (0–6.52)	
	sCJD case 3	Brain	6	6	207 ± 3	NA	
		Plasma	24	0	>700	0 (0–6.24)	
	sCJD case 4	Brain	6	6	207 ± 3	NA	
		Plasma	24	0	>700	NA	
	tgHu	Control human	Plasma	12	0	>650	NA
	tgBov	Control human	Plasma	12	0	>650	NA
tgHu	Control human	PBS	12	0	>700	NA	
tgBov	Control human	PBS	12	0	>700	NA	
tgHu	Control human	Brain	24	0	>700	NA	
tgBov	Control human	Brain	24	0	>700	NA	
tgHu	Control human	None	24	0	>750	NA	
tgBov	Control human	None	24	0	>750	NA	

vCJD, variant Creutzfeldt-Jakob disease; sCJD, sporadic Creutzfeldt-Jakob disease; dpi, days postinfection; ID, infectious dose; tgBov, bovine prion protein; tgHu, human prion protein; PBS, phosphate-buffered saline.

‡The leukocyte(s) from a single vCJD case corresponding to a starting volume of 3 mL of blood were suspended in 1 mL of 5% glucose solution. The leukocyte suspension and the crude erythrocytes were homogenized by using a high speed cell disrupter. The leukocyte and erythrocyte homogenates (vCJD case) and crude plasma (vCJD and sCJD cases) were intracerebrally injected into mice (20 µL per mouse). For the 4 sCJD MM1 cases, brain homogenate (10%, temporal cortex) were also inoculated in tgHu. Mice were euthanized when they showed clinical signs of infection or after 650 or 750 dpi. Mice were considered infected when abnormal protease-resistant prion protein deposition was detected in brain tissue by using Western blot analysis with Sha31 monoclonal antibody, epitope amino acids 145–152 (YEDRYRRE) of the sheep PrP sequence. For samples showing 100% attack rate, incubation periods are reported as mean (± SD). For other samples, individual incubation period of CJD-positive mice are presented; their infectious titers were estimated by using limiting dilution titration method (application of Poisson model) described by Brown et al (13).

§Leukocyte titer is expressed as ID/mL of the starting whole blood. Plasma and erythrocyte titers are expressed as ID/mL of inoculum. §24 mice were inoculated; 10 died because of the acute toxicity of the sample.

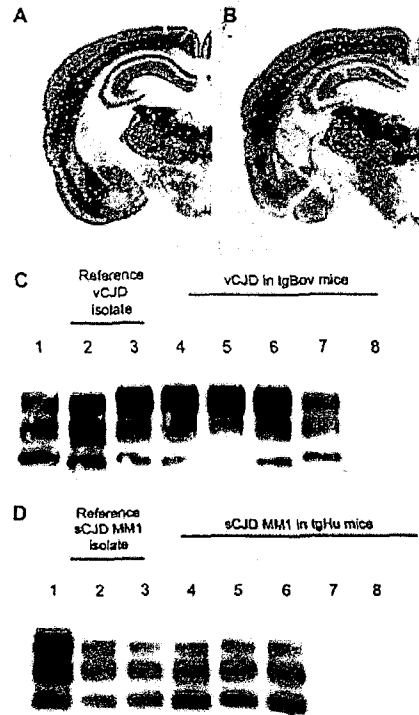


Figure. Abnormal prion protein (PrP<sup>sc</sup>) detection by using Western blot (WB) and paraffin-embedded tissue (PET) blot in the brain of transgenic mice expressing the methionine 129 variant of the human prion protein (PrP) (tgHu) or bovine PrP (tgBov). A, B) PET blot PrP<sup>sc</sup> distribution in coronal section (thalamus level) of tgHu mice inoculated with sporadic Creutzfeldt-Jakob disease (sCJD) MM1 isolates (10% brain homogenate): A) reference isolate used for the endpoint titration in Table 1; B) sCJD case 1 (Table 2). C) PrP<sup>sc</sup> WB of variant Creutzfeldt-Jakob disease (vCJD) reference isolate (used for endpoint titration in Table 1) and tgBov mice inoculated with the same vCJD reference isolate or vCJD blood fractions. Lane 1, WB-positive control; lanes 2 and 3, reference vCJD isolate; lane 4, leukocytes; lane 5, erythrocytes; lane 6, plasma; lane 7, WB-positive control; lane 8, healthy human plasma in tgBov. D) PrP<sup>sc</sup> Western blot of the sCJD reference isolate (used for endpoint titration in Table 1) and tgHu mice inoculated with the same sCJD reference isolate and plasma from sCJD cases. A proteinase K-digested classical scrapie isolate in sheep was used as positive control for the blots in panels C and D. (PrP<sup>sc</sup> immunodetection in PET and Western blots was performed by using Sha31 monoclonal antibody (epitope: 145YEDRYRE152 of the human PrP). Lane 1, WB-positive control; lanes 2 and 3, reference sCJD MM1 isolate; lane 4, brain tissue from case 1; lane 5, plasma from case 1; lane 6, plasma from case 3; lane 7, plasma from case 2; lane 8, plasma from case 4.

preparation was performed by using laboratory scale hematologic protocols (online Technical Appendix, [wwwnc.cdc.gov/EID/article/20/1/13-0353-Techapp1.pdf](http://wwwnc.cdc.gov/EID/article/20/1/13-0353-Techapp1.pdf)), not by following the procedure applied by blood banking services. This method implies that the leucodepletion that is applied to blood labile products in most countries to reduce the vCJD bloodborne transmission risk was not performed. Brain tissue samples from each of the 4 sCJD cases were also inoculated with tgHu. On the basis of the incubation period (Table 2) and PrP<sup>sc</sup> distribution pattern in the brain as assessed by using paraffin-embedded tissue blot, the TSE agents in those isolates were indistinguishable from those in the MM1 sCJD case that was used for endpoint titration (Figure, panel A).

No TSE clinical signs or PrP<sup>sc</sup> accumulation were observed in the tgBov or tgHu mice inoculated with phosphate-buffered saline or brain and plasma from healthy human controls. The 3 blood fractions from the vCJD-affected patient caused a positive result but low attack rate among tgBov mice (Table 2). On the basis of these results, infectivity in erythrocytes and plasma was estimated to be 2.12 infectious dose (ID)/mL of inoculum. In leukocytes, the infectious titer was estimated to be 2.23 ID/mL of whole blood. According to these values and the hematocrit of the sample (online Technical Appendix), the global infectious titer whole blood in the tested patient would be  $\approx 4.45$  ID/mL. Such infectious level is approximately equivalent to 1.4  $\mu$ g of the reference vCJD brain sample that was endpoint-titrated (Table 1).

In tgHu mice, positive transmission was observed among mice inoculated with 2 of 4 plasma samples (Table 2). The infectious titers in both positive plasma samples were estimated to be 2.12 and 3.7 ID/mL of plasma, which is equivalent to 0.3–0.5  $\mu$ g of the reference sCJD MM1 brain sample that was endpoint titrated (Table 1). However, because of the limited number of mice inoculated ( $n = 24$ ) and the overall sensitivity of the assay (upper CI limit 6.24 ID/mL), the absence of transmission in mice inoculated with the 2 other plasma samples cannot be interpreted conclusively.

In tgBov inoculated with vCJD and tgHu inoculated with sCJD, the PrP<sup>sc</sup> banding patterns observed by Western blot in animals challenged with brain homogenate and blood components were identical (Figure, panels C, D). These results support the contention that the TSE agent propagated in tgBov mice and tgHu were vCJD and sCJD agents, respectively.

#### Conclusions

The data reported here confirm the presence of infectivity in erythrocytes, leukocytes, and plasma from vCJD-affected patients and demonstrate unambiguously the presence of infectivity in the plasma of some, but not all, sCJD-affected patients. The infectivity levels that we

measured in the tested vCJD and sCJD blood components were comparable to those reported in various TSE animal models. The number of cases included in our study was limited; a new experiment that would include a larger number of cases and different blood fractions from sCJD cases will be necessary to refine the data. However, these results represent a substantial input for assessing the risk for interindividual bloodborne transmission of sCJD and vCJD.

#### Acknowledgments

The authors are greatly indebted to the National Creutzfeldt-Jakob Disease Surveillance Unit (UK-Edinburgh) for providing variant CJD brain samples.

This work was supported by a grant from the European Commission: Protecting the food chain from prions: shaping European priorities through basic and applied research (PRIORITY, N°222887; project no. FP7-KBBE-2007-2A) and by grants from the JPND program (DEMTEST: Biomarker based diagnosis of rapid progressive dementias-optimization of diagnostic protocols, 01ED1201A). The study in Germany was funded by the Robert Koch-Institute through funds of the Federal Ministry of Health (grant no. 1369-341).

Mr Douet is assistant lecturer in ophthalmology at the National Veterinary School of Toulouse and a PhD student in the TSE group in the UMR INRA ENVT 1225 unit. His primary research interests are the pathogenesis of the prion disease with special emphasis on the risk of iatrogenic transmission.

#### References

- Parchi P, Castellani R, Capellari S, Ghetti B, Young K, Chen SG, et al. Molecular basis of phenotypic variability in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Ann Neurol*. 1996;39:767–78. <http://dx.doi.org/10.1002/ana.410390613>
- Brown P, Brandel JP, Sato T, Nakamura Y, MacKenzie J, Will RG, et al. Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease, final assessment. *Emerg Infect Dis*. 2012;18:901–7. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1806.120116>
- Brown P, Cervenakova L, Düringer H. Blood infectivity and the prospects for a diagnostic screening test in Creutzfeldt-Jakob disease. *J Lab Clin Med*. 2001;137:5–13. <http://dx.doi.org/10.1067/mlc.2001.111951>
- Brown P, Gibbs CJ Jr, Rodgers-Johnson P, Asher DM, Sulima MP, Bacote A, et al. Human spongiform encephalopathy: the National Institutes of Health series of 300 cases of experimentally transmitted disease. *Ann Neurol*. 1994;35:513–29. <http://dx.doi.org/10.1002/ana.410350504>
- Bruce ME, Will RG, Ironside JW, McConnell I, Drummond D, Suttie A, et al. Transmissions to mice indicate that 'new variant' CJD is caused by the BSE agent. *Nature*. 1997;389:498–501. <http://dx.doi.org/10.1038/39057>
- Peden AH, Head MW, Ritchie DL, Bell JE, Ironside JW. Preclinical vCJD after blood transfusion in a PRNP codon 129 heterozygous patient. *Lancet*. 2004;364:527–9. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)16811-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(04)16811-6)
- Peden A, McCardle L, Head MW, Love S, Ward HJ, Cousens SN, et al. Variant CJD infection in the spleen of a neurologically asymptomatic UK adult patient with haemophilia. *Haemophilia*. 2010;16:296–304. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2516.2009.02181.x>
- Bruce ME, McConnell I, Will RG, Ironside JW. Detection of variant Creutzfeldt-Jakob disease infectivity in extraneural tissues. *Lancet*. 2001;358:208–9. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(01\)05411-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(01)05411-3)
- Andréoletti O, Litaise C, Simmons H, Corbiere F, Lukan S, Costes P, et al. Highly efficient prion transmission by blood transfusion. *PLoS Pathog*. 2012;8:e1002782. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1002782>
- Béringue V, Vilotte JL, Laude H. Prion agent diversity and species barrier. *Vet Res*. 2008;39:47. <http://dx.doi.org/10.1051/vetres:2008024>
- Castilla J, Gutiérrez Adán A, Brun A, Pintado B, Ramírez MA, Parra B, et al. Early detection of PrPres in BSE-infected bovine PrP transgenic mice. *Arch Virol*. 2003;148:677–91. <http://dx.doi.org/10.1007/s00705-002-0958-4>
- Padilla D, Béringue V, Espinosa JC, Andreoletti O, Jaumain E, Reine F, et al. Sheep and goat BSE propagate more efficiently than cattle BSE in human PrP transgenic mice. *PLoS Pathog*. 2011;7:e1001319. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1001319>
- Markus RA, Frank J, Groshen S, Azen SP. An alternative approach to the optimal design of an LD50 bioassay. *Stat Med*. 1995;14:841–52. <http://dx.doi.org/10.1002/sim.4780140812>
- Brown P, Cervenakova L, McShane LM, Barber P, Rubenstein R, Drohan WN. Further studies of blood infectivity in an experimental model of transmissible spongiform encephalopathy, with an explanation of why blood components do not transmit Creutzfeldt-Jakob disease in humans. *Transfusion*. 1999;39:1169–78. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1537-2995.1999.39111169.x>

Address for correspondence: Olivier Andreoletti, UMR Interactions Hôtes Agents Pathogènes, Ecole Nationale Vétérinaire INRA, ENVT, 31076 Toulouse, France; email: o.andreoletti@envt.fr

**Medscape** Sign up to receive email announcements when  
**CME** a new article is available.

Get an online subscription at [wwwnc.cdc.gov/eid/subscribe.htm](http://wwwnc.cdc.gov/eid/subscribe.htm)

医薬品 研究報告 調査報告書

Table with columns: 識別番号・報告回数, 一般的名称, 販売名(企業名), 報告日, 第一報入手日, 新医薬品等の区分, 総合機構処理欄, 研究報告の公表状況, 公表国, 米国内, 研究報告の概要, 使用上の注意記載状況・その他参考事項等, 報告企業の意見, 今後の対応.

MedDRA/J Ver.16.1J

206A

ABSTRACT SUPPLEMENT

JRC2013T-043

TRANSDUCTION  
2013, Vol. 53 Supplement

Donor Follow-up Testing

Table with columns: Collect Date, Days Post Donation, PCR, ELISA Signal/cutoff (where 3(+) = 1), IgM, IgG.

SP381

First Proof of PrP<sup>Sc</sup> Presence in Blood-Circulating Exosomes from Transmissible Spongiform Encephalopathies (TSE)-Infected Mice by P. Saa (p.saa@cross.org), O. Yakovleva, J. de Castro, I. A. Vasiliyeva, L. Cervenakova, Transmissible Diseases Department, American Red Cross Holland Laboratory, Rockville, MD, United States

Background/Case Studies: Exosomes (membrane vesicles of 30-120 nm in diameter) were originally considered to be a cellular mechanism to eliminate unwanted proteins. Recent investigators however, have attributed new roles to these vesicles including intercellular communication and agent dissemination. This study reports the distribution of prions (the agents implicated in transmissible spongiform encephalopathies (TSE)) in prion-infected mice. Cellular prion protein (PrP<sup>C</sup>) and its misfolded counterpart (PrP<sup>Sc</sup>) have been identified in exosomes from various TSE-infected cell cultures. Prions were obtained from TSE-infected cell cultures have caused or accelerated disease in mice. Exosomes isolated from blood components contain PrP<sup>C</sup> and have raised the possibility that they may also contain PrP<sup>Sc</sup> and serve as vehicles for the transmissible transmission of TSEs. In this study we isolated exosomes from plasma samples of mice infected with human TSE agents and demonstrated the presence of PrP<sup>Sc</sup> by biochemical methods. These findings set the ground for the design of novel blood-based diagnostic tests for TSEs. Study Design/Methods: Exosomes were isolated with ExoQuick reagent (System Biosciences) from 250 µl of plasma collected from clinically sick mice infected with human TSEs, and uninfected controls. Exosome pellets were mixed with uninfected mouse brain homogenates and amplified by sPMCA method (which allows the multiplication of minute amounts of PrP<sup>Sc</sup> to levels detectable by standard biochemical assays). After proteinase K digestion, PrP<sup>Sc</sup> was detected by Western blot using the anti-PrP monoclonal antibody 6D11. Results/Findings: Exosomal preparations were positive for exosomal markers Hsp70 and flotillin by Western blotting. sPMCA allowed the specific detection of PrP<sup>Sc</sup> in samples from TSE-infected animals. Different numbers of sPMCA rounds were necessary to amplify PrP<sup>Sc</sup> to detectable levels in individual exosomal samples. These findings suggest that different quantities of PrP<sup>Sc</sup> are present in PrP<sup>Sc</sup> at the terminal stage. Conclusion: The biochemical detection of PrP<sup>Sc</sup> in plasma exosomes, obtained from clinically sick animals, is reported here for the first time. These experiments provide an invaluable foundation for the development of a diagnostic test for prion-containing exosomes and the identification of the cellular origin of prion-containing exosomes and the stage of prion replication in blood. Support: The study was partially supported by Fondation Alliance BioScience, France.

Disclosure of Commercial Conflict of Interest

L. Cervenakova: Nothing to disclose; J. de Castro: No Answer; P. Saa: Nothing to disclose; I. A. Vasiliyeva: Nothing to disclose; O. Yakovleva: Nothing to disclose.

Disclosure of Grants Conflict of Interest

L. Cervenakova: Nothing to disclose; J. de Castro: No Answer; P. Saa: Nothing to disclose; I. A. Vasiliyeva: Nothing to disclose; O. Yakovleva: Nothing to disclose.

SP382

Prevalence of T. Cruzi Antibodies in Blood Donors from a Blood Bank Placed in a Non-Endemic Area with High Migration Rates. G. A. Ojeda, Guillelmo Ojeda@croziodiagnosicos.org, J. D. Muñoz, National Blood Bank, Colombian Red Cross, Bogotá, Colombia

Background/Case Studies: Chagas disease, an infection caused by Trypanosoma cruzi (T. Cruzi), is endemic in several regions in Central and South America. Increasing migration rates have extended the number of cases to non-endemic regions such Europe and the US. Several migration strategies have been implemented in recent years for preventing

TRANSDUCTION  
2013, Vol. 53 Supplement

transmission-associated cases in these regions. In Colombia, serologic screening for T. Cruzi antibodies to all co-donor blood became mandatory in 1993. During the last 10 years, the capital city of Bogotá, a non-endemic region, has experienced a significant increase in the number of cases caused by the maternal social conflict. The prevalence of T. Cruzi antibodies in blood donors from a reference blood bank placed in a non-endemic area (Bogotá, 8530 ft AMSL), during the last 8 years is reported here. Study Design/Methods: Results of screening tests for T. Cruzi were retrospectively reviewed for all blood donations from January 2005-December 2012 at the National Blood Bank, Colombian Red Cross in Bogotá, Colombia. Various ELISA-based assays were used for donor screening until January 2012 when a chemiluminescence method was introduced (ARCHITECT Chagas assay, Abbott GmbH & Co. KG). From 2005-2007 and 2009 Chagas (Viteri BioMediatrix, Merck-Elielie, France). From 2008-2009 Chagas (Viteri Laboratorios S.A.I.C., Argentina). From 2010-December 2011: ORTHO ELISA Test System (Johnson & Johnson, HighWycombe, UK). All reactive samples were confirmed by indirect immunofluorescence. Results/Findings: In total, 191,964 donations were tested during the time of the study, resulting in 645 samples being reactive. Only 280 samples were confirmed to be positive. The reactivity rate for T. Cruzi was 0.37%, although, as the table shows, in 2007 and 2008 there was an unexpected rise in the detection rate, explained by transitory problems with the cut off values assigned during that time. The positivity rate was 0.14% (1 confirmed case every 686 units). Conclusion: The positivity rate and positive rates found in this bank are much higher than those reported recently in the US or Europe. Based on these data, Bogotá has comparable positive rates to other endemic places in the world.

Disclosure of Commercial Conflict of Interest

J. D. Muñoz: Nothing to disclose; G. A. Ojeda: Nothing to disclose; Disclosure of Grants Conflict of Interest

J. D. Muñoz: Nothing to disclose; G. A. Ojeda: Nothing to disclose

Table with columns: Year, Donors, Reactive donors, Confirmed cases.

Transfusion-Transmitted Infectious Diseases: Viruses

SP383

Eleven-Year Experience of Parental and Non-Parental Whole Blood Donor Infectious Disease Testing at a Pediatric Hospital Whole Blood Donor Center

N. Lazzari (lazzari.nara@gmail.com), V. Criss, E. Gourine, C. Conum, N. L. Luban, E. Wong, Laboratory Medicine, Children's National Medical Center, Washington, DC, United States; Pediatrics and Pathology, George Washington School of Medicine and Health Sciences, Washington, DC, United States; Children's Research Institute, Children's National Medical Center, Washington, DC, United States

Background/Case Studies: Directed donation is well known to be associated with increased infectious disease rates. However, little is known of the infectious disease risk of parental donation as a special subcategory of directed donations. It was hypothesized that: 1) parental donors would have higher infectious disease risk than homologous donors because of internal parental incentives to donate in order to help their child, and 2) have similar or greater infectious disease risk than non-parental directed donors because of internal pressure to donate. Study Design/Methods: An 11 year retrospective study (January 1997-December 2008) of whole blood donation at a pediatric hospital blood donor center was undertaken. Review of blood donor deferral codes, including infectious disease testing positivity, was performed to assess transmission disease risk. Total yearly blood donors formed to assess transmission disease risk, total yearly blood donors were stratified by donor subcategory (parental, non-parental directed and homologous) and first time infectious disease testing was determined (parental) yearly incidence of positive infectious disease testing was determined for all groups. Matchmaking IU test was used to verify median incidence rates between each group. Results/Findings: Over a 11 year period, a total of 23,665 first time and repeat donors attempted whole blood donation. Although there was a trend towards higher median yearly incidence of positive infectious disease testing among parental donors

医薬品 研究報告 調査報告書

Table with 5 columns: 識別番号・報告回数, 一般的名称, 報告日, 第一報入手日, 新医薬品等の区分, 総合機構処理欄. Includes details for '新鮮凍結人血漿' and 'vCJD血液検査'.

29

MedDRA/J Ver.16.1J

From bloodjournal.hematologylibrary.org at Central Blood Institute c/o Japanese Red Cross Society JRC2014T-005

452 CORRESPONDENCE

BLOOD, 16 JANUARY 2014 • VOLUME 123, NUMBER 3

Conflict-of-interest disclosure: The authors declare no competing financial interests.

Correspondence: Gregory A. Abel, Dana-Farber Cancer Institute, 450 Brookline Ave, Boston, MA 02215; e-mail: gregory\_abel@dfci.harvard.edu.

References

- 1. Mawardi L, Hattisford-Lundberg E, Bowen D, et al. Diagnosis and treatment of primary myelodysplastic syndromes in adults: an international consensus statement. European J Haematol. 2013;112(12):243-256.
2. Mawardi L, Committee of the Patient-Centered Outcomes Research Institute (PCORI). The impact of patient-centeredness in comparative effectiveness research: the PCORI perspective. JAMA. 2013;309(15):1628-1635.
3. Charet M, Sharpe J, Altman DG, Henckel DA, Walker O, Stavrougi MD, CONSORT PRD. Reporting of patient-reported outcomes in randomized trials: the CONSORT PRO extension. JAMA. 2013;309(9):914-922.
4. Ericace F, Galante G, Sprangers M, et al. Preference for involvement in patient decisions and request for prognostic information in newly-diagnosed patients with high-risk myelodysplastic syndromes. Ann Oncol. (in press).

To the editor:

A highly specific blood test for vCJD

Variant Creutzfeldt-Jakob disease (vCJD) is a fatal neurodegenerative disease originating from exposure to bovine spongiform encephalopathy (BSE). Despite low clinical incidence, the risk of secondary vCJD infection via blood transfusions from subclinical carriers persists. A recent study of appendix samples by the United Kingdom (UK) Health Protection Agency estimates 1 in 2000 silent prion infections in the UK population (95% confidence interval [CI]: 1 in 1248-3546). This estimate is in sharp contrast to the small number of recognized clinical cases that may be explained at least in part by the extremely prolonged incubation periods associated with human prion disease and the possibility that the barrier to infection is lower in lymphoreticular tissue than in brain, leading to subclinical infection.

A sensitive and specific blood-based assay for vCJD infection, though urgently needed, has been elusive because abnormal prion protein (PrP) levels are extremely low in blood and chemically identical normal PrP is in large excess. Previously, we demonstrated a prototype assay that captured and enriched disease-associated PrP from whole blood using stainless steel powder, achieving impressive

Table 1. vCJD infection blood test performance

Table with 4 columns: vCJD-negative cohorts, vCJD-positive cohorts, Positive, Specificity. Rows include US normals, UK normals, vCJD spikes, vCJD patients, US normals + vCJD patients.

Whole blood samples were incubated overnight in buffer containing stainless steel powder, as previously described. The powder was heat treated and serially incubated with doubly-labeled anti-PrP antibody, NeuN/Avi-PrP, and dithionite-reduced substrate. Samples were scored reactive if the mean signal from 3 replicates exceeded an on-plate negative control cutoff. Repeat-reactive samples were considered positive for vCJD. Inhibitive and single-reactive samples were considered negative for vCJD.

Anomalous blood samples from unaffected blood donors were obtained from the American Red Cross (US normals) and the National Health Service Blood and Transplant service of England and Wales (UK normals). Positive control samples consisted of 0.1% w/v vCJD-infected brain homogenate in whole unfiltered human blood (vCJD spikes) and were used to preserve scarce stocks of endogenous vCJD patient samples (vCJD patients). Copper and Passon's 'bead' method was used for candidate enrichment of prionases. Likelihood ratios and their confidence intervals were calculated using Haldane's correction and a derived approximation for risk ratios.

and transmission<sup>5</sup> have been demonstrated in animal models. Despite some limitations and uncertainties, the prototype vCJD assay has sufficient performance to justify a prevalence study comparing prion-exposed and prion-unexposed populations, which would require 20 000 samples from each cohort ( $1-\beta = 80\%$ ,  $\alpha = 5\%$ ). A blood prevalence study would provide essential information for deciding if routine vCJD screening is needed for blood, tissue, and organ donations and for patients before high-risk surgical procedures.

**Graham S. Jackson**  
Medical Research Council Prion Unit,  
Department of Neurodegenerative Disease,  
University College London Institute of Neurology,  
London, United Kingdom

**Jesse Burk-Rafel**  
Medical Research Council Prion Unit,  
Department of Neurodegenerative Disease,  
University College London Institute of Neurology,  
London, United Kingdom  
University of Michigan Medical School,  
Ann Arbor, MI

**Julie A. Edgeworth**  
Medical Research Council Prion Unit,  
Department of Neurodegenerative Disease,  
University College London Institute of Neurology,  
London, United Kingdom

**Anita Sicilia**  
Medical Research Council Prion Unit,  
Department of Neurodegenerative Disease,  
University College London Institute of Neurology,  
London, United Kingdom

**Sabah Abdillahi**  
Medical Research Council Prion Unit,  
Department of Neurodegenerative Disease,  
University College London Institute of Neurology,  
London, United Kingdom

**Justine Korteweg**  
Medical Research Council Prion Unit,  
Department of Neurodegenerative Disease,  
University College London Institute of Neurology,  
London, United Kingdom

**Jonathan Mackey**  
Medical Research Council Prion Unit,  
Department of Neurodegenerative Disease,  
University College London Institute of Neurology,  
London, United Kingdom

**Claire Thomas**  
Medical Research Council Prion Unit,  
Department of Neurodegenerative Disease,  
University College London Institute of Neurology,  
London, United Kingdom

**Guosu Wang**  
Medical Research Council Prion Unit,  
Department of Neurodegenerative Disease,

University College London Institute of Neurology,  
London, United Kingdom

**Simon Mead**  
Medical Research Council Prion Unit,  
Department of Neurodegenerative Disease,  
University College London Institute of Neurology,  
London, United Kingdom  
National Prion Clinic, National Hospital for Neurology and Neurosurgery,  
London, United Kingdom

**John Collinge**  
Medical Research Council Prion Unit,  
Department of Neurodegenerative Disease,  
University College London Institute of Neurology,  
London, United Kingdom  
National Prion Clinic, National Hospital for Neurology and Neurosurgery,  
London, United Kingdom

**Acknowledgments:** We thank Dr Susan Stramer and the American Red Cross for assistance and provision of samples, Dr Zoe Fox for sample size calculations, Ray Young for the preparation of figures, and Jonathan Wadsworth for critical reading of this letter.

This work was supported by the UK Medical Research Council, the UK Department of Health National Institute of Health Research Biomedical Research Centres funding scheme, and the Whitaker International Fellowship (J.B.-R.).

**Conflict-of-interest disclosure:** J.C. is a director and J.C. and G.S.J. are shareholders of D-Gen Limited (London, UK), an academic spin-out company working in the field of prion disease diagnosis, decontamination, and therapeutics. The authors declare no competing financial interests.

**Contribution:** G.S.J. and J.C. conceived the study; J.A.E., A.S., S.A., J.K., J.M., C.T., and G.W. performed assays; S.M. provided clinical expertise and samples; G.S.J. and J.B.-R. analyzed results and made the figures; and G.S.J., J.B.-R., and J.C. wrote the letter and all authors provided input.

**Correspondence:** Graham S. Jackson, Medical Research Council Prion Unit, Department of Neurodegenerative Disease, University College London Institute of Neurology, Queen Square, London, WC1N 3BG, United Kingdom; e-mail: g.s.jackson@prion.ucl.ac.uk

## References

1. Gill ON, Spencer Y, Richard-Loendt A, et al. Prevalent abnormal prion protein in human appendixes after bovine spongiform encephalopathy epizootic: large scale survey. *BMJ*. 2013;347:f5675.
2. Béringue V, Herzog L, Jaumain E, et al. Facilitated cross-species transmission of prions in extraneural tissue. *Science*. 2012;335(6067):472-475.
3. Edgeworth JA, Farmer M, Sicilia A, et al. Detection of prion infection in variant Creutzfeldt-Jakob disease: a blood-based assay. *Lancet*. 2011;377(9764):487-493.
4. Saá P, Castilla J, Soto C. Presymptomatic detection of prions in blood. *Science*. 2006;313(5783):92-94.
5. Andréoletti O, Litaise C, Simmons H, et al. Highly efficient prion transmission by blood transfusion. *PLoS Pathog*. 2012;8(6):e1002782.

© 2014 by The American Society of Hematology

To the editor:

## Application of CIBMTR risk score to NIH chronic GVHD at individual centers

A new risk score to predict mortality in patients with chronic graft-versus-host disease (GVHD) was recently reported by Arora et al by analyzing a large amount of data between 1995 and 2004 from the

Center for International Blood and Marrow Transplant Registry (CIBMTR).<sup>1</sup> The risk score consists of 10 variables defined at transplantation or at onset of chronic GVHD that are objective and

医薬品  
医薬部外品 研究報告 調査報告書  
化粧品

識別番号・報告回数	報告日	第一報入手日 2014年02月24日	新医薬品等の区分 該当なし	厚生労働省処理欄
<b>一般名称</b> ①②抗HBs人免疫グロブリン ③④乾燥抗HBs人免疫グロブリン ⑤ポリエチレングリコール処理抗HBs人免疫グロブリン				公表国 イギリス
<b>販売名 (企業名)</b> ①抗HBs人免疫グロブリン筋注 200単位/1mL「日赤」 (日本血液製剤機構) ②抗HBs人免疫グロブリン筋注 1000単位/5mL「日赤」 (日本血液製剤機構) ③ヘプスリン筋注用 200単位 (日本血液製剤機構) ④ヘプスリン筋注用 1000単位 (日本血液製剤機構) ⑤ヘプスリンIH静注 1000単位 (日本血液製剤機構)	<b>研究報告の 公表状況</b>	Health Protection Report/Vol. 8 Nos. 5/6 - 7 and 14 February 2014		
<b>感染症報告書</b> 第8巻6号 発行日：2014年2月14日  新たな感染症/CJD 年2回のCJDに関する最新情報(2014年1月)ー新たなヒトプリオン病の概況 半年に1回の本報告書は、潜在的な病原性(医療による感染) クロイツフェルト・ヤコブ病(CJD) 感染に対して行われた強化監視活動の最新情報を提供するものである。データは2013年12月31日の時点で正確である。CJD症例報告書の件数についてはNational CJD Research and Surveillance Unit (NCJDRSU, <a href="http://www.cjd.ed.ac.uk/data/html">http://www.cjd.ed.ac.uk/data/html</a> ) から提供されているデータを参考とされたい。また、最近確認されたヒトプリオン病の可変プロテアーゼ感受性プリオン症に関する概況も以下に示す。  CJDの'感染リスクが高い'患者のモニタリング その人物が受けた医療の結果、CJD感染リスクが高いことが確認されている人物にはそれぞれの曝露状況を知らせ、他者への感染を避けるために公衆衛生上の注意に従うよう求めている。また、このような患者をフォローアップして、種々の経路で患者に伝播するCJD感染リスクを確認すると共に、高度のCJD感染リスクに曝露された可能性のある人物がCJDを発症することになるのかどうかを確認する一助としている。公衆衛生のフォローアップ活動には、臨床モニタリング、一般開業医(GP)からの最新情報の取得のほか、このような高リスク群の無症候性の人物がCJD病原物質に感染していたのかどうかを確認するために行う検視も含まれる。研究目的のために血液や組織試料が提供される場合もある。このような活動には以下のとおり、多くの異なる機関が与している: Public Health England (旧 Health Protection Agency)、Health Protection Scotland (HPS)、UCL Institute of Child Health/Great Ormond Street Hospital (ICH)、NHS Blood and Transplant (NHSBT)、National CJD Research and Surveillance Unit (NCJDRSU)、National Prion Clinic (NPC)、UK Haemophilia Centre Doctors' Organisation (UKHCDO)。 PHE (Public Health England) のCJD班は、CJD感染リスクが高いことが確認され、これについて通知を受けている人物のデータ収集をまとめている。このような人物には公衆衛生のモニタリングや種々の機関による研究活動を通してフォローアップが行われている。  PHEのCJD班は現在、感染リスクのある以下の患者群についてデータを保有している。 ・献血後にvCJDを発症したドナーから血液成分の輸血を受けたレシピエント ・輸血後にvCJDを発症した人物に献血した血液ドナー	<b>使用上の注意記載状況・ その他参考事項等</b>  代表としてヘプスリンIH静注1000単位の記載を示す。 2. 重要な基本的注意 (1)略 (2)略 2)現在までに本剤の投与により変異型クロイツフェルト・ヤコブ病(vCJD)等が伝播したとの報告はない。しかしながら、製造工程において異常プリオンを低減し得るとの報告があるものの、理論的なvCJD等の伝播のリスクを完全には排除できないので、投与の際には患者への説明を十分行い、治療上の必要性を十分検討の上投与すること。			

33

研究報告の概要

ヘプスリン

医薬品  
医薬部外品 研究報告 調査報告書  
化粧品

<ul style="list-style-type: none"> <li>このような血液ドナーから血液成分の輸血を受けたその他のレシピエント</li> <li>1990年から2001年までに特定の血漿製剤の投与を受けたレシピエント(非出血性疾患の患者)</li> <li>CJDと診断された患者との特定の外科的な接触</li> <li>輸血が多いレシピエント</li> </ul> <p>以下のリスク群に関するデータはPHE以外の機関が保有している。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>1990年から2001年までに血漿製剤の投与を受けた出血性疾患の患者(UKHCDO)</li> <li>1985年以前にヒト由来成長ホルモンの投与を受けたレシピエント(ICH)</li> <li>1992年8月以前に硬膜移植を受けた可能性のある患者(現在、データは収集されていない)</li> <li>1973年以前にヒト由来ゴナドトロピンの投与を受けたことがある人物(現在、データは収集されていない)</li> <li>遺伝性プリオン病(NPC)のリスクがある家族</li> </ul> <p>UKHCDOのデータは、UK原料由来の血液凝固因子を投与された'感染リスクのある'出血性疾患患者の実際の数を過小評価している可能性があり、それはリスクがあると確認された患者からUKHCDOデータベースへの報告が不完全であったためである。リスクがあると通知を受けた患者はUKHCDOデータベースから詳細を削除する選択肢が与えられており、リスクがある患者合計から削除される。ヒト由来ヒト成長ホルモンの投与を受けた感染リスクのある患者に関してICHが保有しているデータは、実際の総数よりわずかに下回っている。これはこれらのうち少数の患者がICHのフォローアップに含まれていないためである。</p> <p>*****</p> <p><b>可変プロテアーゼ感受性プリオン症</b></p> <p>可変プロテアーゼ感受性プリオン症(VPSPr)は、ごく最近同定されたヒトプリオン病であり、2008年に「プロテアーゼ感受性の異常なプリオンタンパク質による新たなヒト疾患」としてGambettiらが米国で初めて報告した。それ以来、他の諸国でも同様の症例が確認されており、National CJD Research and Surveillance Unitも英国で9例を確認した。そのうち3例は回顧的に確認されたものであり、残りの症例は1991年以降に収集された検体およびデータから推定されたものである。他の対象例は現在、調査中である。VPSPr患者には後天性ヒトプリオン病の特定のリスク因子がなく、またプリオンタンパク質遺伝子(PRNP)のコード配列に関連突然変異が認められていない。当初の報告で、一部の患者にはっきりしない認知症の家族歴がみられたが、これはごく最近同定された症例の特徴ではなかった。VPSPrは、散発性クロイツフェルト・ヤコブ病(sCJD)の場合と同じ年齢層の患者が罹患し、ほとんどは60歳以降の患者が発症する。臨床的特徴はsCJDより変化に富んでおり、運動異常、認知機能低下および歩行不安定がある。臨床症状を呈する期間はsCJDより長く、ほとんどの患者がこの疾患で死亡するまで1年以上生存する。そのため、臨床診断の基準を設定することが困難であり、この疾患については解明の途上と考えられ、この問題に関するさらなる研究が望まれる。</p> <p>sCJDと同様、VPSPrもPRNP遺伝子のコドン129の多型、すなわちMM、MVおよびVVによって定義されるすべての遺伝子群で発生する。sCJDとは異なり、コドン129-Vのハプロタイプが優勢である。VPSPrは顕著な神経病理学的特徴があり、最も典型的な特徴は、標的様に並んだ微小なプラークで、特に小脳に多い。この微小なプラークは様々な抗PrP抗体で異なる染色性を示し、一般的なsCJD VV2および稀なsCJD VV1サブタイプの両者と区別することが可能である。VPSPrの最も顕著かつ明白な特徴は脳に切開する異常なプリオンタンパク質の生化学的性状であり、タンパク分解に対してほとんど抵抗性がなく、Western blotアッセイでは低含量の切断された8kDa(約)のバンドがみられる。このフラグメントは18~30kDaの範囲まで延長した淡い梯子状のバンドを付随することが多い。VPSPrの中には、異常なプリオンタンパク質のWestern blot解析でしばしば小脳にsCJD様のパターンを示す症例もあり、VPSPrとsCJDとの間で分子の重複があることが示唆される。</p>	
---	--

34

ヘプスリン



医薬品  
医薬部外品 研究報告 調査報告書  
化粧品

<p>VPSPr の疫学、臨床および病理学的な診断基準ならびに伝播の特性を十分に確立するにはさらなる研究が必要である。Dangerous Pathogens Transmissible Spongiform Encephalopathy の諮問委員会 (ACDP TSE) のサブグループは、今後の研究で VPSPr がどのように伝播するのかを明らかにするまで、CJD およびその他の関連疾患に関する感染対策の指針にこの新たなヒトプリオン病を追加することが望ましいと結論した。</p>	
<p style="text-align: center;">報告企業の意見</p> <p>血漿分画製剤は理論的な vCJD 伝播リスクを完全に排除できないため、投与の際には患者への説明が必要である旨を 2003 年 5 月から添付文書に記載している。2009 年 2 月 17 日、英国健康保護庁 (HPA) は vCJD に感染した供血者の血漿が含まれる原料から製造された第Ⅷ因子製剤の投与経験のある血友病患者一名から、vCJD 異常プリオン蛋白が検出されたと発表した。日本血液製剤機構の原料血漿採取国である日本及び米国では、欧州滞在歴のある献 (供) 血希望者を一定の基準で除外している。また、第 81 回 国際獣疫事務局 (OIE) 総会 (2013 年 5 月) により、我が国が「無視できる BSE リスク」の国に認定されたことから、原料血漿中に異常型プリオン蛋白が混入するリスクは 1999 年以前の英国に比べて極めて低いと考える。なお、本剤の製造工程においてプリオンが低減される可能性を検討するための実験を継続して進めているところである。</p>	<p style="text-align: center;">今後の対応</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>

## Infection reports

Volume 8 Number 6 Published on: 14 February 2014

### Emerging infections/CJD

#### CJD biannual update (2014/1), with briefing on novel human prion disease

*This six-monthly report provides an update on the enhanced surveillance of potential iatrogenic (healthcare-acquired) exposures to Creutzfeldt-Jakob Disease (CJD). The data is correct as at 31 December 2013. For numbers of CJD case reports, readers should consult data provided by the National CJD Research and Surveillance Unit (NCJDRSU, <http://www.cjd.ed.ac.uk/data.html>). A briefing on a recently-identified human prion disease – Variably Protease-Sensitive Prionopathy – is also presented below.*

#### Monitoring of patients 'at increased risk' of CJD

Individuals who have been identified as at increased risk of CJD as a consequence of their medical care are informed of their exposure and asked to follow public health precautions to avoid potentially transmitting the infection to others. They are also followed-up to help determine the risks of CJD transmission to patients through different routes and to ascertain whether any people who may have been exposed to increased CJD risks go on to develop CJD.

Public health follow-up activities include clinical monitoring, general practitioner (GP) updates, and post mortem investigations to determine whether asymptomatic individuals in these groups have been infected with the CJD agent. Some individuals also provide blood or tissue specimens for research purposes. A number of different organisations are involved in these activities: Public Health England (formerly the Health Protection Agency), Health Protection Scotland (HPS), UCL Institute of Child Health/Great Ormond Street Hospital (ICH), NHS Blood and Transplant (NHSBT), National CJD Research and Surveillance Unit (NCJDRSU), National Prion Clinic (NPC), and the UK Haemophilia Centre Doctors' Organisation (UKHCDO).

The PHE CJD Section coordinates the collation of data on individuals identified as at increased risk of CJD, and who have been informed of this. These individuals are followed up through public health monitoring and research activities by different organisations (table 1).

The PHE CJD Section currently holds data on the following groups of 'at risk' patients:

- recipients of blood components from donors who subsequently developed vCJD
- blood donors to individuals who later developed vCJD
- other recipients of blood components from these blood donors
- recipients of certain plasma products between 1990 and 2001 (non-bleeding disorder patients)
- certain surgical contacts of patients diagnosed with CJD
- highly transfused recipients.

Data on the following risk groups are not held by PHE, but are held by other organisations:

- bleeding disorder patients who received plasma products between 1990 and 2001 (UKHCDO)
- recipients of human derived growth hormone before 1985 (ICH)
- patients who could have received a dura mater graft before August 1992 (data not currently collected)
- people who have been treated with gonadotrophin sourced from humans before 1973 (data not currently collected)
- family risk of genetic prion disease (NPC).

The data from the UKHCDO are likely to be an underestimate of the true number of 'at risk' patients with bleeding disorders who received UK-sourced clotting factors, as there was incomplete reporting of identified 'at risk' patients by haemophilia centres to the UKHCDO database. Notified 'at risk' patients are given the option of removing their details from the UKHCDO database, and are then removed from the 'at risk' totals.

The data on 'at risk' patients who received human-derived human growth hormone held by the ICH is a slight underestimate of the total as a small number of these patients are not included in the ICH follow-up.

Table 1. Summary of all 'at risk' groups on which data are collected (as at 31 December 2013)

'At risk' Group	Identified as 'at risk'	Number notified as being 'at risk'		Cases	Asymptomatic infections (b)
		All	Alive		
Recipients of blood from who later developed vCJD	67	27	15	3	1
Blood donors to who later developed vCJD	112	107	104	-	-
Other recipients of blood components from these donors	34	32 [c]	19 [c]	-	-
Plasma product recipients (non-bleeding disorders) who received UK sourced plasma products 1980-2001	11	10	4	-	-
Certain surgical contacts of patients diagnosed with CJD	154	129 [d]	113 [e]	-	-
Highly transfused patients	11	10	6	-	-
<b>Total for 'at risk' groups where PHE holds data</b>	<b>389</b>	<b>315 [f]</b>	<b>261 [f]</b>	<b>3</b>	<b>1</b>
Patients with bleeding disorders who received UK-sourced plasma products 1980-2001 [a]	3,875	National information incomplete	National information incomplete	-	1
Recipients of human-derived growth hormone [a]	1,883	1,883	1,504	75	-
<b>Total for all 'at risk' groups [a]</b>	<b>6147</b>	<b>At least 2198</b>	<b>At least 1765</b>	<b>78</b>	<b>2</b>

a. These are minimum figures. Central reporting for bleeding disorder patients is incomplete, and seven patients have opted out of the central UK Haemophilia Centre Doctors' Organisation database. A small number of 'at risk' growth hormone recipients are not included in the Institute of Child Health study. Not all of 'at risk' growth hormone recipients have been notified. There is no central record of who has been informed.

b. An asymptomatic infection is when an individual does not exhibit any of the signs and symptoms of CJD in life but abnormal prion protein indicative of CJD infection has been found in tissue obtained from them. In these cases the abnormal prion protein was identified during post mortem after the individuals had died of other causes.

c. One patient notified by proxy. d. Four of these notified by proxy. e. Two of these notified by proxy. f. Includes patients notified by proxy.

## Variably Protease-Sensitive Prionopathy

Professor James W Ironside and Dr Mark W Head,

The National CJD Research and Surveillance Unit, University of Edinburgh.

Variably protease-sensitive prionopathy (VPSPr) is the most recently identified human prion disease, first described in the USA by Gambetti *et al.* in 2008 as "a novel human disease with abnormal prion protein sensitive to protease" [1]. Since then, similar cases have been identified in other countries; the National CJD Research and Surveillance Unit has identified nine cases in the UK, three of which have been identified retrospectively and the others prospectively from samples and data collected since 1991 [2-6]. Other candidate cases are currently under investigation.

Patients with VPSPr have no identified risk factors for acquired human prion disease and no associated mutations in the prion protein gene (PRNP) coding sequence have been found. In the original description a proportion of the patients had family histories of ill-defined dementia, but this has not been a feature in more recently identified cases [1,2,6]. VPSPr affects patients in the same age range as sporadic Creutzfeldt-Jakob disease (sCJD), occurring mostly in patients over the age of 60. The clinical features are more varied than in sCJD and include movement abnormalities, cognitive decline and unsteadiness while walking. The clinical illness is longer than for sCJD; most patients survive for over a year before succumbing to the illness. Diagnostic clinical criteria are therefore difficult to establish, and further work is required on this topic since this disease is likely to be under-ascertained [2,6].

Like sCJD, VPSPr occurs in all genetic groups defined by the polymorphism at codon 129 in the PRNP gene, ie MM, MV and MV. Unlike sCJD, there is a preponderance of the codon 129-V haplotype. VPSPr has distinctive neuropathological features, the most typical of which are microplaques that occur in a target-like arrangement and are particularly common in the cerebellum. These microplaques show differential staining with a panel of different anti-PrP antibodies, allowing a distinction from both the common sCJD VV2 and the rare sCJD VV1 subtypes [1,2,5,6]. The most distinctive and defining feature of VPSPr is the biochemistry of the abnormal prion protein in the brain, which is only poorly resistant to proteolytic digestion, yielding a low abundance, truncated 8kDa (approx) band in Western blot assays [1]. This fragment is often accompanied by a faint ladder of bands extending into the 18-30kDa range [1,2]. Some cases of VPSPr also show a sCJD-like pattern on Western blot analysis for abnormal prion protein, often in the cerebellum, suggesting molecular overlaps between VPSPr and sCJD [6,7].

Further work is required to fully establish the epidemiology, clinical and pathological diagnostic criteria and transmission characteristics of VPSPr. The Advisory Committee on Dangerous Pathogens Transmissible Spongiform Encephalopathy (ACDP TSE) Subgroup concluded that until further research can demonstrate how transmissible VPSPr may be, it would be advisable to add this novel form of human prion disease to the infection control guidance for CJD and other related disorders.

### References

1. Gambetti P, Dong, Yuan J, *et al.* A novel human disease with abnormal prion protein sensitive to protease. *Ann Neurol* 2008; 63: 697-708.
2. Zou WQ, Puoti G, Xiao X, *et al.* Variably protease-sensitive prionopathy: A new sporadic disease of the prion protein. *Ann Neurol* 2010; 68: 162-72.
3. Head MW, Knight R, Zeidler M, *et al.* A case of protease sensitive prionopathy in a patient in the United Kingdom. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2009; 35: 628-32.
4. Jansen C, Head MW, van Gooij WA, *et al.* The first case of protease-sensitive prionopathy (PSP) in The Netherlands: a patient with an unusual GSS-like clinical phenotype. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2010; 81: 1052-5.
5. Head MW, Lowrie S, Chohan G, *et al.* Variably protease-sensitive prionopathy in a PRNP codon 129 heterozygous UK patient with co-existing tau, a synuclein and A $\beta$  pathology. *Acta Neuropathol* 2010; 120: 821-3.
6. Head MW, Yull HM, Ritchie DL, *et al.* Variably protease-sensitive prionopathy in the UK: a retrospective review 1991-2008. *Brain* 2013; 136: 1102-15.
7. Rodriguez-Martinez AB, de Munain AL, Ferrer I, *et al.* Coexistence of protease sensitive and resistant prion protein in 129 VV homozygous sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *J Med Case Rep* 2012; 6: 348.

識別番号・報告回数	報告日	第一報入手日	新医薬品等の区分	総合機構処理欄
一般的名称	研究報告の公表状況	Emerging Infectious Diseases · www.cdc.gov/eid Vol. 19, No. 4, April 2013	公表国 英国	使用上の注意記載状況・ その他参考事項等
販売名(企業名)				
<p>E型肝炎のプライマリホストは豚で、人獣共通感染症であると考えられている。未調理もしくは簡易調理された豚肉製品が主要感染経路と考えられており、他にE型肝炎ウイルスに汚染された血液製剤やHEV感染ドナーの肝臓移植があるが、ほとんどの場合、感染源と感染経路は不明である。2011年5月、42歳の女性が、倦怠感、下痢、吐き気、嘔吐が1週間つづき、受診したところ、肝機能検査で肝炎を示した。患者のHEV IgMおよびIgG血清学的検査結果は陽性であり、HEV遺伝子型3と逆転写PCRおよび配列決定によって同定された。検査によりエプスタイン-バーウイルス、肝炎ウイルスA、BおよびCを含むウイルス性肝炎および肝細胞性黄疸、自己免疫性肝炎は除外された。</p> <p>多くのHEV患者と同じように、12週間後には臨床的に回復し、肝機能検査は8週間後に正常化した。この症例における感染源、感染経路は不明であるが、発症4週間前に腹腔鏡下虫垂切除術を受けており、血液製剤の投与は受けていなかったが、血栓塞栓予防として低分子ヘパリンの投与を受けていた。ヨーロッパや北米で使用されるヘパリンはブタ腸粘膜から生成されるが、製造工程の詳細が開示されていないため、ヘパリンの製造業者によるHEVの除去または不活性化が十分であるかどうかを評価することは困難である。著者らの知る限り、臨床グレードのヘパリンのウイルス汚染についての検討はなされていないことから、ヘパリンがHEV感染の原因との仮説を立てた。この可能性を調べるために、虫垂炎の治療時に使用されていたダルテパリンナトリウムのバッチを含む、ヘパリンの複数のバッチをスクリーニングした。</p> <p>分析した全ての試料が試験された3つのウイルス(HEV、PCV2、PPV)について陰性であったことを考えると、ヘパリンの製造プロセスは、ウイルスを除去するのに十分であると推察される。</p>				
報告企業の意見		今後の対応		
<p>術後にHEV感染がみられた患者の感染源についてヘパリンが原因との仮説を立てたが、ヘパリンの製造プロセスはウイルスを除去するのに十分であると推察されると結論づけていることから、現時点で安全性に関する懸念はないものとする。</p>		<p>今後とも安全性情報等に留意していく。</p>		

41

LETTERS

**Powassan Virus Encephalitis, Minnesota, USA**

To the Editor: Birge and Somesyn report the first death of a Minnesota resident caused by Powassan virus (POWV) (1). However, they provide an inaccurate description of several critical diagnostic and surveillance issues concerning POWV.

The 17 POWV infections detected in Minnesota residents from 2008 through 2011 (6 cases were identified through 2010, not 8 as reported by Birge and Somesyn) (Minnesota Department of Health [MDH], unpublished data) were found through enhanced surveillance. Health alerts to Minnesota medical providers described POWV as a possible etiologic agent for viral meningitis and encephalitis. Providers consulted with MDH on suspected cases and submitted serum and cerebrospinal fluid specimens to MDH. MDH conducted serologic testing for endemic arboviruses (including POWV) and reverse transcription PCR (RT-PCR) for flaviviruses and POWV. MDH would not have detected any POWV infections without enhanced surveillance. Limited field studies also identified POWV-infected ticks in 4 Minnesota counties (not 2 as reported [1]) (MDH, unpublished data).

Commercial laboratories do not provide testing for POWV, and only a few state health department laboratories and the Centers for Disease Control and Prevention offer testing. Serologic testing (enzyme immunoassay with plaque-reduction neutralization testing confirmation) is preferred (2) because POWV RT-PCRs are not validated, and the short viremic periods of flaviviruses limit their usefulness (3).

Few POWV infections are identified by lineage (genotype vs. deer tick virus); Minnesota's first case in 2008 was identified as a deer tick virus infection, but the lineage was unknown

for the other 16 cases. However, many case-patients had likely exposure to *Ixodes scapularis* ticks (blacklegged ticks), the tick species associated with deer tick virus transmission, and viruses from all POWV-positive tick pools were confirmed as deer tick virus by sequencing. The distribution of the 2 lineages in North America is poorly understood, and most cases likely go undetected without specific POWV surveillance efforts.

David F. Neitzel, Ruth Lynfield, and Kirk Smith

Author affiliation: Minnesota Department of Health, St. Paul, Minnesota, USA

DOI: <http://dx.doi.org/10.3201/eid1904.121951>

References

1. Birge J, Somesyn S. Powassan virus encephalitis, Minnesota, USA. *Emerg Infect Dis*. 2012;18:1669-71. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1810.120621>
2. Hinnen SR, Becker GA, Ganshimer KF, Pitchard E, Courtney TK, Sears SD, et al. Increased recognition of Powassan encephalitis in the United States, 1999-2005. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2008;8:713-40.
3. Lanioiti RS. Molecular amplification assays for the detection of flaviviruses. *Adv Virus Res*. 2003;61:67-99. [http://dx.doi.org/10.1016/S0065-3527\(03\)91002-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0065-3527(03)91002-X)

Address for correspondence: David F. Neitzel, Minnesota Department of Health, Infectious Disease Epidemiology, 625 Robert St N, PO Box 64975, St. Paul, MN 55164, USA; email: [david.neitzel@state.mn.us](mailto:david.neitzel@state.mn.us)

**Hepatitis E Virus and Porcine-derived Heparin**

To the Editor: Cases of sporadic, locally acquired hepatitis E have been increasingly identified in industrialized countries over the last few years (1). In this setting, hepatitis E is thought to be a zoonotic infection, with pigs as the primary host. Consumption of uncooked or lightly cooked pork meat products is thought to be a key route of infection, but other routes of transmission have been documented (2). For example, there have been several iatrogenic cases after transfusion of hepatitis E virus (HEV)-contaminated blood products (3) and transplantation of an HEV-infected donor liver (4). However, in most cases the source and route of infection are uncertain.

In May 2011, a 42-year-old woman sought care at the Royal Cornwall Hospital in Truro, United Kingdom, for a 1-week history of malaise, diarrhea, nausea, and vomiting. Physical examination results were normal. Her liver function test results, however, indicated hepatitis: alanine aminotransferase 2,785 IU/L (reference range 10-36 IU/L), alkaline phosphatase 319 IU/L (reference range 30-130 IU/L), and bilirubin 30 µmol/L (reference range <21 µmol/L). HEV IgM and IgG serologic test results for the patient were positive, and HEV genotype 3 was identified in her blood by reverse transcription PCR and sequencing. Other causes of viral hepatitis and hepatocellular jaundice, including hepatitis viruses A, B, and C; Epstein-Barr virus; and autoimmune hepatitis, were excluded by testing. As with most immunocompetent persons with HEV, the patient made an uneventful clinical recovery after 12 weeks, and her liver function tests returned to normal after 8 weeks.

NHONSEIYAKU  
Heap-001

Search  
past issues  
**EID**  
online  
[www.cdc.gov/eid](http://www.cdc.gov/eid)

9

Table. Heparin samples tested for hepatitis E virus, porcine circovirus 2, and porcine parvovirus\*

Producer, proprietary name/other names, batch or lot no.	Use	Excipient	Concentration	Quantity tested, IU	95% upper CL, /IU†
<b>Sanofi‡</b>					
Clexhane/enoxaparin	Injection	H <sub>2</sub> O			
ILA01			20 mg/0.2 mL	6,000	0.0006
34751			40 mg/0.4 mL	4,000	0.0009
OLC56			80 mg/0.8 mL	8,000	0.0005
ILA53			60 mg/0.6 mL	6,000	0.0006
OLC07			100 mg/mL	10,000	0.0004
12255			120 mg/0.8 mL	12,000	0.0003
<b>Pfizer§</b>					
Fragmin/dalteparin sodium	Injection	H <sub>2</sub> O pH adjusted with HCl or NaOH			
12339A01			5,000 IU/0.2 mL	15,000	0.0002
12338A01			5,000 IU/0.2 mL	15,000	0.0002
12327B01			5,000 IU/0.2 mL	15,000	0.0002
12257A01			5,000 IU/0.2 mL	15,000	0.0002
12444A01			5,000 IU/0.2 mL	10,000	0.0004
12122C01			7,500 IU/0.3 mL	7,500	0.0005
74774D51			10,000 IU/0.4 mL	10,000	0.0004
74871B51			12,500 IU/0.5 mL	25,000	0.0001
74779G51			12,500 IU/0.5 mL	12,500	0.0003
74871B51			12,500 IU/0.5 mL	12,500	0.0003
74743C52			15,000 IU/0.6 mL	30,000	0.0001
74755A51			15,000 IU/0.6 mL	30,000	0.0001
74832A52			15,000 IU/0.6 mL	15,000	0.0002
74832A01			15,000 IU/0.6 mL	15,000	0.0002
X08580			100,000 IU/4 mL	100,000	0.00004
<b>Wockhart#</b>					
Monoparin	Injection	H <sub>2</sub> O pH adjusted with HCl or NaOH			
PK40319			1,000 IU/mL	20,000	0.0002
3090			1,000 IU/mL	10,000	0.0004
<b>Hepsal</b>					
	Flushing	NaCl, H <sub>2</sub> O, HCl, and NaOH			
5000090			10 IU/mL	120	0.03
91180			50 IU/mL	50	0.07
1069			200 IU/mL	200	0.02
<b>Leo**</b>					
Heparin sodium	Intravenous flushing	Benzyl alcohol, methyl parahydroxybenzoate, propyl parahydroxybenzoate, sodium citrate, NaCl, and H <sub>2</sub> O			
DD7314			100 IU/mL	200	0.02
CC4338			100 IU/mL	200	0.02
<b>Celgene††</b>					
Refludan/Lepirudin, 25561611A††	Powder used for solution for injection/infusion	Mannitol, NaOH, and H <sub>2</sub> O	12.5 mg/mL	NA	NA
<b>Total quantity tested</b>	<b>NA</b>	<b>NA</b>	<b>NA</b>	<b>404,270</b>	<b>0.000009</b>

\*NA, not applicable.

†The 95% upper confidence limit of the probability of a virus-positive result per IU was calculated on the basis of the quantity tested for each batch. This was estimated, assuming perfect detection of a Poisson process, by using Fisher exact test. For the pooled result, the upper 95% estimate is  $\pm 1$  per 100,000 IU.

‡Sanofi (Guilford, UK).

§Pfizer (Sandwich, UK).

¶Multidose vials used for injection, Excipients: Benzyl alcohol and H<sub>2</sub>O.

#Wockhart (Wrexham, UK).

\*\*Leo (Buckinghamshire, UK).

††Celgene (Uxbridge, UK).

‡‡Non-porcine-derived anticoagulant alternative.

The source and route of infection in this case was uncertain. A detailed in-person assessment of potential risk factors was undertaken with the

patient. She had not traveled outside the United Kingdom in the previous 3 months. She rarely ate pork products (well cooked bacon only); ate no shell-

fish; and had no workplace, domestic, or recreational exposure to pig or their effluent. However, 4 weeks before symptom onset, the patient had

acute appendicitis for which she underwent an uneventful laparoscopic appendectomy and was hospitalized for 2 days. During hospitalization she received no blood products, but, as prophylaxis for thromboembolic disease, she received 2 doses (5,000 IU each) of low-molecular weight heparin (Fragmin [dalteparin sodium]; Pfizer, Sandwich, UK) by subcutaneous injection. All heparins used in Europe and North America are isolated from porcine intestinal mucosa (5). The exact purification methods used by heparin manufacturers are deemed commercially sensitive and not in the public domain, so it is impossible to evaluate whether the isolation process would be sufficient to remove or inactivate any contaminating HEV. The virus is known to be acid and alkaline stable; heat sensitivity varies, depending on strain and heating conditions, although heating at 60°C for 1 hour is generally sufficient to achieve 96% inactivation (6). To our knowledge, no investigation has determined whether clinical-grade heparin could contain viral contaminants. Thus, we hypothesized that the heparin the patient received might have been the source of her HEV infection.

To examine this possibility, we screened multiple batches of hospital pharmacy-grade heparin for the presence of HEV, including batches of dalteparin sodium that were in use at the hospital when the patient received treatment for appendicitis. Before testing, the samples were ultracentrifuged to concentrate any contaminating virus and enable the removal of excipients, which could inhibit the assay. We tested samples by quantitative reverse transcription PCR (7) in parallel with positive World Health Organization HEV RNA standard spiked controls, which showed the limit of detection (LOD) to be 500 IU/mL, regardless of the heparin's excipient or concentration. This LOD is within the range used by collaborating laboratories in the establishment of the World

Health Organization HEV RNA standard ([http://whqlibdoc.who.int/hq/2011/WHO\\_BS\\_2011.2175\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/hq/2011/WHO_BS_2011.2175_eng.pdf)). In addition, we tested the heparin samples for porcine circovirus 2 (PCV2), an identified adventitious agent of several rotavirus vaccines (8) and porcine parvovirus (PPV) (9), a known contaminate of porcine clotting factor hyate:C (10). Although samples were tested in parallel with PCV2- and PPV- positive spiked controls, we were unable to calculate the LOD for these assays because international standards are not available for these viruses.

All samples tested negative for HEV, PCV2, and PPV (Table), which would indicate the patient's source of HEV infection is unlikely to have been the heparin. However, we cannot rule out low-level viral contamination below the sensitivity of the assay. We also cannot exclude that the negative test results were related to the Poisson effect. Given that all samples analyzed were negative for all 3 viruses tested, it seems likely that the heparin manufacturing process is sufficient to remove viral contaminants. However, this may not necessarily be the case for other porcine-derived products, such as porcine insulin, factor VIII C, pancreatin, and porcactant alfa. Further investigation is warranted to exclude these products as potential sources of HEV infection.

#### Acknowledgment

We thank the Chief Scientist Office of Scotland who funded this work under project ETM/32.

C. Crossan, L. Scobie,  
J. Godwin, J.G. Hunter,  
T. Hawkes, and H.R. Dalton

Author affiliations: Glasgow Caledonian University, Glasgow, Scotland, UK (C. Crossan, L. Scobie, J. Godwin); Royal Cornwall Hospital, Truro, UK (J.G. Hunter, T. Hawkes, H.R. Dalton); and University of Exeter Medical School, Truro (H.R. Dalton)

DOI: <http://dx.doi.org/10.3201/eid1904.121792>

#### References

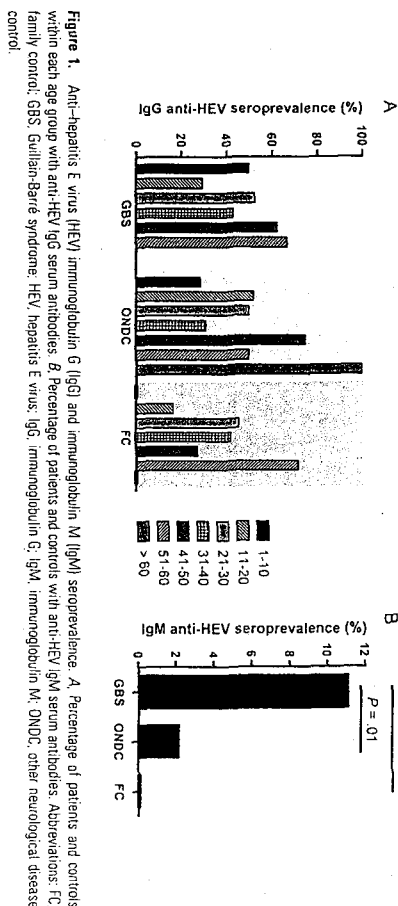
- Kamar N, Bendall R, Abravanel F, Xia N, Ijaz S, Izopet J, et al. Hepatitis E. *Lancet*. 2012;379:2477–88. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)61849-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(11)61849-7)
- Scobie L, Dalton HR. Hepatitis E: source and route of infection, clinical manifestations and new developments. *J Viral Hepat*. 2013;20:1–11. <http://dx.doi.org/10.1111/jvh.12024>
- Colson P, Coze C, Gallian P, Henry M, De Micco P, Tamalet C. Transfusion-associated hepatitis E, France. *Emerg Infect Dis*. 2007;13:648–9. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1304.061387>
- Schlosser B, Stein A, Neuhaus R, Paul S, Ramez B, Kruger DH, et al. Liver transplant from a donor with occult HEV infection induced chronic hepatitis and cirrhosis in the recipient. *J Hepatol*. 2012;56:500–2. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2011.06.021>
- Aiban S. The 'precautionary principle' as a guide for future drug development. *Eur J Clin Invest*. 2005;35(Suppl 1):33–44. <http://dx.doi.org/10.1111/j.0960-135X.2005.01455.x>
- Emerson SU, Arankalle VA, Purcell RH. Thermal stability of hepatitis E virus. *J Infect Dis*. 2005;192:930–3. <http://dx.doi.org/10.1086/432488>
- Jothikumar N, Cromeans TL, Robertson BH, Meng XJ, Hill VR. A broadly reactive one-step real-time RT-PCR assay for the rapid and sensitive detection of hepatitis E virus. *J Virol Methods*. 2006;131:65–71. <http://dx.doi.org/10.1016/j.viromet.2005.07.004>
- Gilliland SM, Forrest L, Carre H, Jenkins A, Berry N, Martin J, et al. Investigation of porcine circovirus in human vaccines. *Biologicals*. 2012;40:270–7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biologics.2012.02.002>
- Lau SKP, Woo PCY, Tse H, Fu CTY, Au WK, Chen XC, et al. Identification of novel porcine and bovine parvoviruses closely related to human parvovirus 4. *J Gen Virol*. 2008;89:1840–8. <http://dx.doi.org/10.1099/vir.0.2008/000380-0>
- Soucie JM, Erdman DD, Ewalt BL, Anderson LJ, Torok TJ, El-Jamil M, et al. Investigation of porcine parvovirus among persons with hemophilia receiving Hyate:C porcine factor VIII concentrate. *Transfusion*. 2000;40:708–11. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1537-2995.2000.40060708.x>

Address for correspondence: H. Dalton, Royal Cornwall Hospital, Truro, UK; email: [harry.dalton@rcch.cornwall.nhs.uk](mailto:harry.dalton@rcch.cornwall.nhs.uk)

医薬品 研究報告 調査報告書

識別番号・報告回数		報告日	第一報入手日	新医薬品等の区分	総合機構処理欄
一般的名称	新鮮凍結人血漿		2013. 11. 8	該当なし	
販売名(企業名)	新鮮凍結血漿-LR「日赤」120(日本赤十字社) 新鮮凍結血漿-LR「日赤」240(日本赤十字社) 新鮮凍結血漿-LR「日赤」480(日本赤十字社)	研究報告の公表状況	Geurtsvankessel CH, Islam Z, Mohammad QD, Jacobs BC, Endtz HP, Osterhaus AD. Clin Infect Dis. 2013 Nov;57(9):1369-70. doi: 10.1093/cid/cit512. Epub 2013 Jul 30.	公表国 オランダ	
研究報告の概要	<p>○E型肝炎とギランバレー症候群 (GBS)</p> <p>HEV感染は肝疾患の他に、GBSや上腕神経炎のような神経症状を呈することがある。GBS患者には高い頻度で <i>Campylobacter jejuni</i>、サイトメガロウイルスなどの先行感染が認められる。多くの発展途上国ではGBSに先行する感染症について調査されていなかったことから、HEVジェノタイプ1感染及びGBSの両方がよく見られるバングラデシュにおいて、GBS患者の症例対照研究を行った。</p> <p>2006年7月～2007年6月の間、ダッカの病院でGBS患者を連続して100人登録し、1患者につき2人の対照者(患者と同じ家庭で生活する家族[FC]及び年齢、性別、入院期間が適合した同じ病棟の他の神経疾患患者[ONDC])を設定した。GBS患者の平均年齢は24歳、ONDCは24歳、FCは33歳であった。GBS患者のHEV IgG抗体の陽性率(44%)は、対照と同程度であった(ONDC; 46%及びFC; 41%)が、対照的にHEV IgM抗体の陽性率は、対照(ONDC; 2%及びFC; 0%)と比較しGBS患者(11%)で有意に高かった。IgM抗体陽性者1人からHEV RNAが検出され、ジェノタイプ1と分類された。</p> <p>本研究により発展途上国におけるGBSと、それに先行するHEV感染の関連が初めて示された。2000年にバングラデシュからポリオが根絶されて以来、GBSは急性弛緩性麻痺の最も一般的な原因となっており、輸入ポリオ症例が未だに報告される現在、HEV関連GBSと区別するための適切な診断法が必要である。</p>				<p>使用上の注意記載状況・その他参考事項等</p> <p>新鮮凍結血漿-LR「日赤」120 新鮮凍結血漿-LR「日赤」240 新鮮凍結血漿-LR「日赤」480</p> <p>血液を介するウイルス、細菌、原虫等の感染、vCJD等の伝播のリスク</p>
報告企業の意見	<p>バングラデシュにおいてギランバレー症候群患者のHEV IgM及びIgG抗体の陽性率を調査したところ、対照群に比べてIgM抗体陽性率が有意に高く、GBSとHEV感染の関連が示されたとの報告である。</p>				
今後の対応	<p>日本赤十字社では、厚生労働科学研究「経口感染によるウイルス性肝炎(A型及びB型)の感染防止、病態解明、遺伝的多様性及び治療に関する研究」班と共同して、献血者におけるHEV感染の疫学調査を行っている。今後もHEV感染の実態に関する情報の収集及び安全対策に努める。</p>				

MedDRA/J Ver.16.1J



CORRESPONDENCE • CID 2013:57 (1 November) • 1369

**Hepatitis E and Guillain-Barré Syndrome**

To the Editor—Hepatitis E virus (HEV) infection is the most common cause of acute hepatitis worldwide. Whereas in developed countries it usually presents as a self-limiting disease caused by genotype 3, genotype 1 and 2 infections in resource-limited countries are associated with considerable morbidity and mortality [1]. Besides liver disease, neurologic manifestations may occur, such as Guillain-Barré syndrome (GBS) and brachial neuritis [2]. GBS is the most common cause of acute neuromuscular paralysis

in countries where poliomyelitis has been eliminated [3]. GBS patients frequently report preceding gastrointestinal or respiratory illnesses, such as those caused by *Campylobacter jejuni*, cytomegalovirus, Epstein-Barr virus, and *Mycoplasma pneumoniae* [4], but in many developing countries antecedent infections have not been investigated. Recent reports on the global burden of HEV infection prompted us to perform a case-control study among GBS patients in Bangladesh, where both HEV genotype 1 infection and GBS are commonly diagnosed [3, 5].

A prospective case-control study was conducted between July 2006 and June 2007 enrolling 100 consecutive GBS cases from Dhaka Medical College Hospital, Bangladesh Sheikh Mujib Medical University, and Dhaka Central Hospital in Dhaka, Bangladesh. Two controls per case were recruited: one among the family members of the patient living in the same household (family control [FC]) and one was an age-, sex-, and day-matched patient hospitalized in the same ward with another neurologic disease not related to recent infectious (other neurological disease control [ONDC]). Written informed consent was obtained from all patients and controls. The project protocol was reviewed and approved by the institutional

review board and the ethical committees at Dhaka Medical College and Hospital, Bangladesh.

Ages of GBS patients ranged from 2 to 65 years (mean, 24 [standard deviation (SD), 14]), and of ONDC from 4 to 65 years (mean, 24 [SD, 14]). FCs were significantly older ( $P < .001$ ) as their ages ranged from 11 to 57 years (mean, 33 [SD, 10]). Seventy-two percent of GBS patients and 74% of ONDCs were male, whereas 47% of the FCs were male. HEV-specific serum immunoglobulin M (IgM) and immunoglobulin G (IgG) antibodies were detected with a commercial enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA; Wantai, Beijing, China). The IgG seroprevalence is depicted by age group in Figure 1A. It is in line with earlier reports [5] and illustrates the high prevalence of HEV infection. The mean IgG seroprevalence among GBS patients (44%), ONDCs (46%), and FCs (41%) was similar between patients and controls (data not shown). In contrast, anti-HEV IgM seroprevalence (Figure 1B) was significantly higher among GBS patients as compared to ONDCs ( $P < .01$ ) and FCs ( $P < .001$ ). IgM levels directed against other viral pathogens and *Mycoplasma* were measured as well to control for cross-reactivity (data not shown). IgM seropositive individuals for HEV RNA [6], yielded 1 positive serum sample classified as HEV genotype 1, with a viral load of 6.29 log IU/mL. The sequence identified was deposited into GenBank (accession number KF192078).

These data for the first time show an association between GBS and antecedent HEV infection in a unique case-control study in a developing country. Additional prospective case-control studies should confirm this association, which would add GBS to the disease burden associated with HEV infection. Since poliomyelitis was eradicated from Bangladesh in 2000, GBS has been the most prevalent cause of acute flaccid paralysis. Sporadic cases of imported poliomyelitis are still described and may be clinically misdiagnosed as HEV-associated GBS, emphasizing the need

for adequate diagnostic methods to distinguish between these disease entities.

## Notes

**Acknowledgments.** The authors thank Suzan Pas, MSc (Viroscience Lab, Erasmus MC), for performing the HEV polymerase chain reaction and genotyping, and Mark Pronk, BSc (Viroscience Lab, Erasmus MC), for performing ELISAs. We are grateful to Dr Mohammad Badrul Islam, MBBS, for his support in the enrollment of patients in Dhaka.

**Financial support.** This work was supported by the European Community Seventh Framework Programme (FP7/2007-2013) under project EMPIRE (grant agreement 223498) and by International Centre for Diarrhoeal Disease Research core funds under the mentoring program.

Current donors providing unrestricted support to icddr.b operations and research include: Australian Agency for International Development, Government of the People's Republic of Bangladesh, Canadian International Development Agency, Swedish International Development Cooperation Agency, and the Department for International Development, UK. The authors gratefully acknowledge these donors for their support and commitment to icddr.b. The donors had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

**Potential conflicts of interest.** A. D. M. E. O. is chief science officer for Viroclinics Biosciences BV, a contract research organization that collaborates with pharmaceutical companies. All other authors declare no potential 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.

Corine H. GeurtsvanKessel,<sup>1</sup> Zahirul Islam,<sup>2</sup> Quazi D. Mohammad,<sup>3</sup> Bari C. Jacobs,<sup>4</sup> Hubert P. Endtz,<sup>2,5</sup> and Albert D. M. E. Osterhaus<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Viroscience, Erasmus MC, Rotterdam, The Netherlands; <sup>2</sup>Emerging Diseases and Immunobiology, Centre for Food and Waterborne Diseases, International Centre for Diarrhoeal Disease Research; <sup>3</sup>Department of Neurology, Dhaka Medical College Hospital, Dhaka, Bangladesh; and Departments of <sup>4</sup>Neurology and Immunology and <sup>5</sup>Medical Microbiology and Infectious Diseases, Erasmus MC, Rotterdam, The Netherlands

## References

1. Hoofnagle JH, Nelson KE, Purcell RH. Hepatitis E. *N Engl J Med* 2012; 367:1237-44.
2. Cheung MC, Maguire J, Carey I, Wendon J, Agarwal K. Review of the neurological manifestations of hepatitis E infection. *Ann Hepatol* 2012; 11:618-22.
3. Islam Z, Jacobs BC, van Belkum A, et al. Axonal variant of Guillain-Barre syndrome

associated with *Campylobacter* infection in Bangladesh. *Neurology* 2010; 74:581-7.

4. Jacobs BC, Rothbarth PH, van der Meche FG, et al. The spectrum of antecedent infections in Guillain-Barre syndrome: a case-control study. *Neurology* 1998; 51:1110-5.
5. Harun-Or-Rashid M, Akbar SM, Takahashi K, et al. Epidemiological and molecular analyses of a non-seasonal outbreak of acute icteric hepatitis E in Bangladesh. *J Med Virol* 2013.
6. Koning L, Pas SD, de Man RA, et al. Clinical implications of chronic hepatitis E virus infection in heart transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 2013; 32:78-85.

Correspondence: Corine H. GeurtsvanKessel MD, PhD, Viroscience Lab, Erasmus MC, 's-Gravendijkwal 230, 3015 CE Rotterdam, The Netherlands (c.geurtsvankesse@erasmusmc.nl).

*Clinical Infectious Diseases* 2013;57(9):1369-70

© The Author 2013. 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/cid/cit512

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 2014. 1. 14	新医薬品等の区分 該当なし	総合機構処理欄
一般的名称	新鮮凍結人血漿	研究報告の公表状況	ProMED 20140109.2162194	公表国  ドイツ	使用上の注意記載状況・ その他参考事項等  新鮮凍結血漿-LR「日赤」120 新鮮凍結血漿-LR「日赤」240 新鮮凍結血漿-LR「日赤」480  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
販売名(企業名)	新鮮凍結血漿-LR「日赤」120(日本赤十字社) 新鮮凍結血漿-LR「日赤」240(日本赤十字社) 新鮮凍結血漿-LR「日赤」480(日本赤十字社)				
研究報告の種類 49	<p>○日本におけるデングウイルス(DENV)感染 2013年9月9日、2週間の日本旅行から帰国した51歳ドイツ人女性が、40℃の発熱、嘔気、斑点状丘疹を呈してベルリンの病院に入院した。患者は笛吹市においてブドウ狩りをした際、複数箇所蚊に刺されたことを申告している。発症7日後の血清サンプルにおいてDENV IgMとIgG抗体及びNS1抗原がすべて陽性であったことから、急性DENV感染が示唆された。DENV RNAのリアルタイムRT-PCR及びフラビウイルス共通遺伝子のRT-PCRは陰性であった。入院一週間後、患者は回復して退院した。発症110日後の血清サンプルにおいて、DENV IgG抗体価の有意な減少とNS1抗原及びIgM抗体の陰性結果が示された。患者の行動やDENV潜伏期間を考慮すると、日本で感染した可能性が高く、日本からドイツに持ち込まれた初のDENV感染症検査確定症例となる。従って、2013年晩夏に日本から帰国した発熱患者における鑑別診断には、デング熱を考慮すべきである。さらに、日本のDENV感染について適切な予防措置を早期に実施するために、詳細な調査が必要である。</p>				
	報告企業の意見	<p>日本から帰国したドイツ人旅行者がデング熱を発症し、日本においてDENVに感染した可能性があるとの報告である。</p>			

MedDRA/J Ver.16.1J

PROMED-mail |

JRC2014T-004



Published Date: 2014-01-09 17:02:15  
Subject: PRO/EDR> Dengue/DHF update (03): Germany (Berlin) ex Japan, RFI  
Archive Number: 20140109\_2162194

DENGUE/DHF UPDATE (03): GERMANY (BERLIN) ex JAPAN. REQUEST FOR INFORMATION.  
\*\*\*\*\*

A ProMED-mail post  
http://www.promedmail.org  
ProMED-mail is a program of the  
International Society for Infectious Diseases  
http://www.isid.org

Date: Thu 9 Jan 2014  
From: Jonas Schmidt-Chanast <jonass@gmx.de> [edited]

Autochthonous dengue virus infection in Japan

A previously healthy 51-year-old woman sought treatment in a hospital in Berlin on 9 Sep 2013 after returning from travel to Japan (Honshu). Since 3 Sep 2013 she suffered from fever up to 40 deg C [104 deg F] and nausea, followed by a maculopopular rash. 9 days before admission she had returned from a 2 week round trip (19-31 Aug [2013]) from Japan [with sites visited on the following dates in August 2013]:

- 19-21 Ueda
- 21-24 Fufuiki
- 24-25 Hiroshima
- 25-28 Kyoto
- 28-31 Tokyo

She reported several mosquito bites while grape picking in Fufuiki. She flew nonstop from Frankfurt (International Airport) to Tokyo (Narita International Airport) and [back the same way]. Among several other diseases, dengue fever was suspected, because of the clinical picture. Initially, the 1st serum sample collected 7 days after disease onset gave a positive result in the dengue virus (DENV) IgM and IgG antibody tests (IFA [indirect fluorescent antibody] and rapid test), as well as for DENV NS1 antigen (ELISA and rapid test) demonstrating an acute DENV infection of the patient. Real-Time RT-PCR for DENV RNA and generic flavivirus RT-PCR were negative. After one week in hospital the patient was discharged with a characterization of restitudo ad integrum [total recovery]. A follow-up serum sample was collected in December 2013, because this acute case of dengue fever imported from Japan was considered very unusual. This 2nd serum sample collected 110 days after disease onset revealed a significant DENV IgG titer decrease (IFA) and negative results for DENV NS1 antigen (ELISA and rapid test) and DENV IgM (IFA and rapid test), respectively.

This is the 1st laboratory confirmed case of DENV infection imported from Japan to Germany. Most likely, according to the patient's activities and DENV incubation period, the infection was acquired in Japan. Thus, differential diagnosis in febrile returning travelers from Japan (Honshu) in late summer [2013] should include dengue fever. In addition, the autochthonous transmission of DENV in Japan should be further investigated to take adequate prevention measures early.

Jonas Schmidt-Chanast, Petra Emmerich, Dennis Tappe, Stephan Gunther  
Bernhard Nocht Institute for Tropical Medicine, WHO Collaborating Centre for Arbovirus and Haemorrhagic Fever Reference and Research, National Reference Centre for Tropical Infectious Diseases, Hamburg, Germany  
<jonass@gmx.de>

Daniel Sagebiel, Kathrin Hentsche  
State Office of Health and Social Affairs, Berlin, Germany

Christina Frank, Irene Schunneberg, Klaus Stark  
Robert Koch Institute, Department for Infectious Disease Epidemiology, Berlin, Germany

[This case is, indeed, highly unusual because it implicates a dengue virus infection acquired locally in Japan, and indicates that there must have been other infected individuals in the area where she became infected. This is the 1st



case of locally acquired dengue virus infection in Japan that ProMED-mail has ever posted.

There have been several examples of individuals who have become infected with dengue viruses in Southeast Asia and Africa and subsequently become ill in Japan, indicating that viremic individuals have been bringing dengue virus into the Japanese islands.

It would be of interest to know if there have been other cases of dengue virus infection acquired locally in Japan during the summer of 2013, and to know about the status of populations of dengue virus vector mosquitoes (*Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*) in the areas that the patient visited.

ProMED-mail thanks Dr Jonas Schmidt-Chanasi and colleagues for sending in this 1st-hand report.

A HealthMap/ProMED-mail map of Japan can be accessed at <http://healthmap.org/r/62Cn>. - Mod.TY]

**See Also**

---

2012

-----  
Dengue/DHF update 2012 (12) [20120319.1074013](#)

2010

-----  
Dengue/DHF update 2010 (44) [20100826.3010](#)

2008

-----  
Dengue/DHF update 2008 (35): Japan ex Cote d'Ivoire [20080818.2573](#)

.....ml/ty/mj/ml

---

©2001,2008 International Society for Infectious Diseases All Rights Reserved.

Read our privacy guidelines. Use of this web site and related services is governed by the Terms of Service.

医薬品 研究報告 調査報告書

識別番号・報告回数		報告日	第一報入手日 2014年1月10日	新医薬品等の区分 該当なし。	総合機構処理欄
一般的名称	別紙のとおり。	研究報告の 公表状況	デング熱の国内感染疑い例の症例について (厚生労働省、2014年1月10日)	公表国 日本	
販売名(企業名)	別紙のとおり。				
研究報告の概要	<p>問題点：60年以上ぶりにデング熱の日本国内感染を否定できない症例が確認された。</p> <p>ドイツのロベルト・コッホ研究所から、2013年8月下旬に日本を周遊して帰国した51歳の生来健康なドイツ人女性で、デング熱の感染が確認されたとの情報提供がなされた。患者は、フランクフルト-日本間を直行便で往復しており、発症7日後の血清でデングウイルスIgM、同IgG及びデングウイルスNS1抗原が陽性であったことからデングウイルスの急性感染であることが示された。日本の専門家による検討の結果、当該患者が感染した場所の特定には至らなかったが、日本国内で感染した可能性は否定できないとの結論が得られた。</p>				使用上の注意記載状況・ その他参考事項等
	報告企業の意見		今後の対応		記載なし。
別紙のとおり。		今後とも関連情報の収集に努め、本剤の安全性の確保を図っていきたい。			

MedDRA/J ver. 16.1

別紙

一般的名称	①人血清アルブミン、②人血清アルブミン、③人血清アルブミン*、④人免疫グロブリン、⑤人免疫グロブリン、⑥乾燥ペプシン処理人免疫グロブリン、⑦乾燥スルホ化人免疫グロブリン、⑧乾燥スルホ化人免疫グロブリン、⑨乾燥スルホ化人免疫グロブリン、⑩乾燥スルホ化人免疫グロブリン、⑪乾燥スルホ化人免疫グロブリン*、⑫乾燥濃縮人活性化プロテインC、⑬乾燥濃縮人血液凝固第Ⅷ因子、⑭乾燥濃縮人血液凝固第Ⅷ因子、⑮乾燥濃縮人血液凝固第Ⅷ因子、⑯乾燥濃縮人血液凝固第Ⅸ因子、⑰乾燥濃縮人血液凝固第Ⅸ因子、⑱乾燥濃縮人血液凝固第Ⅸ因子、⑲乾燥抗破傷風人免疫グロブリン、⑳抗HBs人免疫グロブリン、㉑抗HBs人免疫グロブリン、㉒抗HBs人免疫グロブリン、㉓トロンビン、㉔フィブリノゲン加第ⅩⅢ因子*、㉕フィブリノゲン加第ⅩⅢ因子、㉖乾燥濃縮人アンチトロンビンⅢ、㉗ヒスタミン加入免疫グロブリン製剤、㉘人血清アルブミン*、㉙人血清アルブミン*、㉚乾燥ペプシン処理人免疫グロブリン*、㉛乾燥濃縮人アンチトロンビンⅢ
販売名(企業名)	①献血アルブミン20「化血研」、②献血アルブミン25「化血研」、③人血清アルブミン「化血研」*、④ガンマーグロブリン筋注450mg/3mL「化血研」、⑤ガンマーグロブリン筋注1500mg/10mL「化血研」、⑥献血グロブリン注射用2500mg「化血研」、⑦献血ベニコロン-I静注用500mg、⑧献血ベニコロン-I静注用1000mg、⑨献血ベニコロン-I静注用2500mg、⑩献血ベニコロン-I静注用5000mg、⑪ベニコロン*、⑫注射用アナクトC2,500単位、⑬コンファクトF注射用250、⑭コンファクトF注射用500、⑮コンファクトF注射用1000、⑯ノバクトM静注用400単位、⑰ノバクトM静注用800単位、⑱ノバクトM静注用1600単位、⑲テタノセーラ筋注用250単位、⑳ヘパトセーラ筋注用200単位/mL、㉑ヘパトセーラ筋注用200単位/5mL、㉒トロンビン「化血研」、㉓ボルヒール*、㉔ボルヒール組織接着用、㉕アンスロピンP500注射用、㉖ヒスタグロビン皮下注用、㉗アルブミン20%化血研*、㉘アルブミン5%化血研*、㉙静注グロブリン*、㉚アンスロピンP1500注射用
報告企業の意見	<p>デング熱はデングウイルス感染を原因とする感染症である。デングウイルスは40~60nmの球形、核酸は一本鎖RNA、エンベロープを有するウイルスで、蚊によって媒介されるが、人から人への直接感染はない。</p> <p>今回の報告は、ドイツ-日本間を直行便で往復した患者が、ドイツ国内でデング熱を発症し、日本でのデングウイルス感染を否定できない、との報告である。</p> <p>上記製剤の製造工程には、冷エタノール分画工程、ウイルス除去膜ろ過工程及びペプシン処理工程といった原理の異なるウイルスクリアランス工程が導入されており、各工程のウイルスクリアランス効果は「血漿分画製剤のウイルスに対する安全性確保に関するガイドライン(医薬発第1047号、平成11年8月30日)」に基づき、モデルウイルスを用いたウイルスプロセスバリデーションにより確認されている。今回報告したデングウイルスのモデルウイルスには、エンベロープの有無、核酸の種類等から、ウシウイルス性下痢ウイルス(BVDV)が該当すると考えられるが、上記工程のBVDVクリアランス効果については上記バリデーションにより確認されている。また、これまでに上記製剤による新規デングウイルスへの感染報告例は無い。</p> <p>以上の点から、上記製剤はデング熱に対する安全性を確保していると考えられる。</p>

\*：現在製造を行っていない

# INF2013-010

健感発 0110 第 1 号  
平成 26 年 1 月 10 日

各 { 都道府県  
保健所設置市  
特別区 } 衛生主管部(局)長 殿

厚生労働省健康局結核感染症課長

## デング熱の国内感染疑いの症例について (情報提供及び協力依頼)

日頃より感染症対策へのご協力を賜り厚くお礼申し上げます。

デング熱(四類感染症)については、東南アジア諸国等を旅行した際に、現地で感染し、帰国後発症した輸入症例が、昨今では、年間200例前後報告されています。今般、ドイツのロベルト・コッホ研究所より、昨年8月下旬に日本を周遊して帰国した後、発熱、皮疹等の症状を呈したドイツ人について検査を実施したところ、デング熱に感染していたことが確認された旨、一報がありました。

ドイツから提供された情報に基づき、専門家による検討を行った結果、当該患者が、日本国内においてデング熱に感染した可能性は否定できないとの結論に至りましたので、情報提供します(事例の概要は別添1のとおり。日本への一報後、ProMedに公表されたもの。)

デング熱は、ヒトからヒトへの直接的な感染はなく、主として、ネッタイシマカ(日本国内での生息は確認されていない)やヒトスジシマカを介して、ヒト-蚊-ヒトという経路で感染が成立します。日本国内での感染例は過去60年以上にわたり認められていませんが、ヒトスジシマカは北海道と青森県を除く全国に分布しています。わが国においても、急性期の患者(輸入症例)の血液を吸血したヒトスジシマカに刺されることによりデング熱に感染するといった散发事例が発生する可能性は皆無ではなく、今回のドイツ人患者についても、仮に、日本国内で感染したとすれば、そのような感染経路が示唆される場所です(なお、国内で行われている捕集蚊のサーベイランスにおいては、これまでデングウイルスが検出されたという報告はありません。)

つきましては、本事例について、貴管内の医療機関等関係者への情報提供をお願いします。また、引き続き、海外渡航者の注意を喚起するとともに、海外からの帰国者に本疾病の患者が発生した場合は、患者が媒介蚊に刺咬されないように注意し、万一、患者家族等から発症する者があった場合には、速やかに医療機関の受診と保健所への報告を行っていただくよう助言をお願いします。

なお、別添2・3のとおり本疾患に関するQ&Aなど、資料を取りまとめましたの

でご活用ください。

## 参考資料

別添1: ProMed概要

別添2: デング熱について(ファクトシート)

別添3: デング熱に関するQ&A

デング熱に関する技術的な問い合わせ先:

国立感染症研究所ウイルス第一部第二室長 高崎智彦

電話: 03-5285-1111

ProMed (2014年1月10日) 概要

## デングウイルス感染—日本（本州）から帰国したドイツ人旅行者におけるデングウイルス感染

日本（本州）旅行から帰国した生来健康な女性（51歳）が、2013年9月9日にドイツ（ベルリン）の病院を受診。9月3日より、40度の熱、嘔気、続いて、斑状丘疹状皮疹が出現。入院9日前に、2週間の日本旅行（8月19～31日）から帰国。旅程は以下のとおり。

8/19-21 長野県上田市  
8/21-24 山梨県笛吹市  
8/24-25 広島県  
8/25-28 京都府  
8/28-31 東京都

患者は、笛吹市において、複数箇所、蚊に刺されたと申告している。フランクフルト—東京間の往復は直行便を利用。鑑別診断の結果、臨床像より、デング熱を疑った。発症後7日目に採取された、第1回目の血清サンプルにおいて、デングウイルス IgM 及び IgG 抗体（間接蛍光抗体法、迅速試験）及びデングウイルス NS1 抗原（ELISA 法、迅速試験）ともに陽性であったことから、患者はデングウイルス急性感染であることが示された。デングウイルス RNA（リアルタイム RT-PCR 法）及びフラビウイルス共通遺伝子（RT-PCR 法）は陰性であった。入院1週間後、患者は回復して退院した。日本からのデング熱の輸入症例は極めて珍しいことから、2013年12月（発症後110日目）に第2回目の血清サンプルを採取し、デングウイルス IgG 抗体（間接蛍光抗体法）が有意に減少、デングウイルス NS1 抗原（ELISA 法、迅速試験）及び IgM 抗体（間接蛍光抗体法、迅速試験）が陰性との結果が得られた。

これは、日本からドイツに輸入され、実験室診断されたデングウイルス感染症の第一例目である。患者の行動履歴によれば、患者の行動やデングウイルスの潜伏期間を考慮すると、当該患者は日本でデング熱に感染した可能性が高い。以上より、2013年夏に日本（本州）から帰国した発熱を有する旅行者に対する鑑別診断では、デング熱が含まれることになる。さらに、日本におけるデングウイルス感染に対しては、早期に十分な予防法がとられるよう、より詳細な調査がなされるべきである。

投稿者:

Jonas Schmidt-Chanasit *et al.* Bernhard Nocht Institute for Tropical Medicine, Hamburg, GermanyChristiana Frank *et al.* Robert Koch Institute, Berlin, Germany原典: <http://www.promedmail.org/direct.php?id=2162194>

厚生労働省による注: 過去60年以上、デング熱の日本国内における感染例は報告されていない。

## デング熱について

## 1 疾病名

デング熱

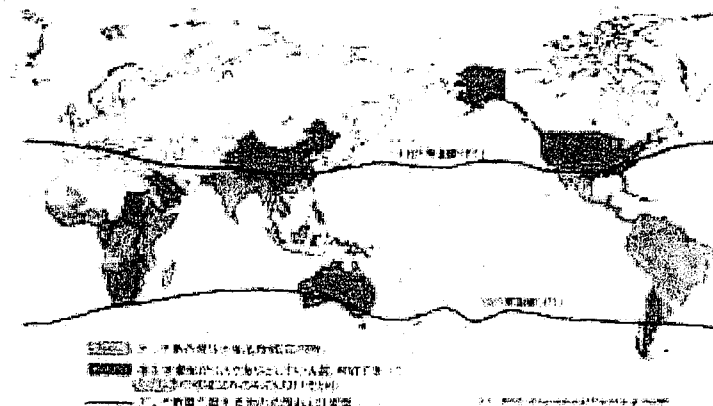
## 2 病原体

デングウイルス（フラビウイルス科フラビウイルス属）

## 3 発生状況

- ・ アジア、中南米、アフリカなど熱帯・亜熱帯地域に広くみられる。
- ・ 世界中で 25 億人以上が感染するリスクがあり、毎年約 5,000 万～1 億人の患者が発生していると考えられている。
- ・ 日本では、海外において感染し帰国後発症するいわゆる輸入症例が、近年は年間約 200 例報告されている。2012 年は 222 例、2013 年は 12 月 22 日までに 244 例報告されている。（※2012 年、2013 年ともに暫定値）
- ・ かつて国内流行がみられたものの、過去 60 年以上国内における感染報告はない。

デング熱のリスクのある国



(出典: FORTH)

## 4 感染経路

- ・ ウイルスを保有した蚊に吸血された際に感染する。
- ・ 媒介蚊は日中、屋外の幅広い地域に生息するヤブカ類である。
- ・ 人-蚊-人の経路で感染が伝播するが、人から人への直接的な感染はない。

## 5 症状

- ・ 突然の発熱、激しい頭痛、関節痛、筋肉痛、発疹など。
- ・ 潜伏期間は2～15日（多くは3～7日）
- ・ デング熱患者の一部は重症化して出血やショック症状を発症することがある。

## 6 病原診断

- ・ 血液等のサンプルからのウイルスの分離・同定及び RT-PCR によるウイルス遺伝子の検出
- ・ 非構造蛋白抗原（NS1）の検出
- ・ 特異的 IgM 抗体の IgM 捕捉 ELISA 法による検出
- ・ 急性期及び回復期におけるウイルスに対する血清中 IgG 抗体価、中和抗体価の有意な上昇の確認

## 7 治療

- ・ 特異的な治療法はなく、対症療法が主体となる。
- ・ 有効な抗ウイルス薬はない。

## 8 予防法

- ・ （特に感染リスクのある地域では）蚊との接触をさけること。具体的には、①長袖、長ズボンを着用し、素足でのサンダル履き等は避ける。②虫除け剤の使用等によって、屋外だけでなく屋内でも蚊に刺されないように注意する。③室内の蚊の駆除を心がける。④蚊幼虫の発生源を作らないように注意する。
- ・ 実用化されたワクチンはない。

## デング熱に関する Q&amp;A

(第1版 平成26年1月10日作成)

## 1. 一般の方向け

Q1 デング熱とは、どのような病気ですか？

デングウイルスが感染しておこる急性の熱性感染症で、発熱、頭痛、筋肉痛や皮膚の発疹などが主な症状です。

Q2 どのようにして感染するのですか？

ウイルスに感染した患者を蚊が吸血すると、蚊の体内でウイルスが増殖し、その蚊が他者を吸血することでウイルスが感染します（蚊媒介性）。ヒトからヒトに直接感染するような病気ではありません。また、感染しても発症しないことも多くみられます。

Q3 世界のどの地域が流行地ですか？

熱帯や亜熱帯の全域で流行しており、東南アジア、南アジア、中南米で患者の報告が多く、その他、アフリカ、オーストラリア、南太平洋の島でも発生があります。最も日本に近い流行地は台湾です。

Q4 日本国内での発生はありますか？

日本国内で感染した症例は、過去60年以上報告されていません。ただし、海外の流行地で感染し帰国した症例が近年では毎年200名前後報告されています。

Q5 感染を媒介する蚊は日本にもいますか？

主たる媒介蚊はネッタイシマカ（日本には常在していません）です。ただし、日本のほとんどの地域で見られるヒトスジシマカも媒介できます。

Q6 治療薬はありますか？

デングウイルスに対する特有の薬はありませんので、対症療法となります。

Q7 罹ると重い病気ですか？

デング熱は、体内からウイルスが消失すると症状が消失する、予後は比較的良好な感染症です。しかし、患者の一部に出血症状を発症することがあり、その場合は適切な治療がなされないと、致死性の病気になります。

Q8 どのように予防すればよいですか？

流行地にでかける際は、蚊に刺されないように注意しましょう。長袖、長ズボンの着用が推奨されます。また蚊の忌避剤なども現地では利用されています。

Q9 予防接種はありますか？

デング熱に有効なワクチンはありません。

Q10 海外旅行中（流行地域）に蚊に刺された場合はどこに相談すればよいですか？

すべての蚊がデングウイルスを保有している訳ではないので、蚊にさされたことだけで過分に心配する必要はありません。

ご心配な場合は、帰国された際に、空港等の検疫所でご相談ください。また、帰国後に心配なことがある場合は、最寄りの保健所等にご相談ください。なお、発熱などの症状がある場合には、医療機関を受診ください。

Q11 今回のドイツ人旅行者はどこで感染したと考えられますか？

ドイツ政府からの情報をもとに専門家と検討した結果、感染した場所の可能性として、日本国内の旅行地、旅行者が使った国際航空機の機内、若しくは母国と日本で利用した国際空港が可能性として考えられます。

Q12 日本国内でデング熱に感染する可能性はあるのでしょうか？

日本にはデング熱の主たる媒介蚊のネッタイシマカは常在していませんが、媒介能力があるヒトスジシマカは国内に広く生息しています。このことから、仮に流行地でウイルスに感染した発症期の人（日本人帰国者ないしは外国人旅行者）が国内で蚊にさされ、その蚊がたまたま他者を吸血した場合に、感染する可能性は低いながらもあり得ます。ただし、仮にそのようなことが起きたとしても、その蚊は冬を越えて生息できず、また卵を介してウイルスが次世代の蚊に伝わることも報告されたことがないため、限定された場所での一過性の感染と考えられます。

## 2. 医療機関・検査機関の方向け

Q1 デング熱の病原体は何ですか？

フラビウイルス科フラビウイルス属に属するデングウイルスです。ウイルスには1～4までの4つの型がありますが、どの型によっても同様の病気がおこり、症状からは感染したウイルスの型はわかりません。

Q2 潜伏期間はどのくらいですか？

2～15日（多くは3～7日）です。

Q3 どのような症状が出ますか？

突然の高熱で発症し、頭痛、眼（か）痛、顔面紅潮、結膜充血を伴い、発熱は2～7日間持続します（二峰性であることが多い）。初期症状に続き、全身の筋肉痛、骨関節痛、全身倦怠感を呈します。発症後3～4日後、胸部、体幹から始まる発疹が出現し、四肢、顔面に広がります。症状は1週間程度で回復します。

なお、ごくまれに一部の患者において、発熱2～7日後、血漿漏出と出血傾向を主な症状とする重篤な致死的病態が出現することがあります。

Q4 検査はどのように行いますか？

血液所見では、発症後数日で高度の白血球減少、血小板減少がみられます。診断のための検査は、血液からの病原体の検出、PCR法による病原体遺伝子の検出、ELISA法による病原体タンパク NS1の検出、IgM抗体の検出、中和試験等による抗体の検出などで、確定検査を行います。

なお、届出におけるデング出血熱の場合には、出血傾向、血小板減少、血管透過性亢進による血漿漏出も含めて、上記の確定検査をともに行います。

Q5 鑑別が必要な疾病はありますか？

発疹を有するウイルス性疾患（麻疹、風疹、チクングニア、エンテロウイルス感染症）、チフス、マラリア、猩紅熱、A型肝炎、レプトスピラ症などとの鑑別が必要です。デング熱でも時に呼吸器症状が見られることがあり、呼吸器感染症との鑑別も必要になることがあります。

Q6 治療法はありますか？

対症療法となります。痛みと発熱に対してのアスピリンの投与は、出血傾向増悪やライ症候群発症の可能性があるので禁忌です。血漿漏出などの症状が出現した場合は、血漿漏出による循環血液量の減少を輸液により補うことが治療の中心になります。

Q7 患者の経過と予後はどうでしょうか？

デング熱の予後は比較的良好です。血漿漏出と出血傾向が主症状の場合は適切な治療がなされないと致死性が高いですが、症状が回復し始めると迅速に回復するのが特徴です。

Q8 確定患者の管理はどのように行えばよいでしょうか？

本病は、蚊を介しないヒトからヒトへの直接的な感染はありません。ただし、発熱中の患者が蚊に刺されることがないように指導することは必要です（日本にいるヒトスジシマカでもウイルス血症期の患者を吸血すれば他者にウイルスを伝播する可能性があります）。

Q9 感染症法上の取り扱いはどうなっていますか？

4類感染症に指定されており、医師が患者を診断した場合は、最寄りの保健所に直ちに届出が必要です。

Q10 ヒトスジシマカについて教えてください。

ヒトスジシマカは、北海道と青森県を除く国内全域に分布しています。その活動時期は5月から10月です。ヒトスジシマカの幼虫は、例えば、ベランダにある植木鉢の受け皿や空き缶・ペットボトルに溜まった水、放置されたブルーシートや古タイヤに溜まった水などによく発生します。人がよく刺されるのは、墓地、竹林の周辺、茂みのある公園や庭の木陰などとされています。

(参考)

国立感染症研究所昆虫医科学部ホームページ

<http://www.nih.go.jp/niid/ja/from:lab/478:ent/3466:ent:photos.html>

ヒトスジシマカの写真

<http://www0.nih.go.jp/niid/entomology/pictures/albopictus/albopictus.html>

Q11 ヒトスジシマカの体内でデングウイルスは増えますか？

ヒトスジシマカの体内でウイルスは増え、デング熱流行を起こす能力がありますが、ネッタシマカに比べるとその増殖は低いとされています。

Q12 ヒトスジシマカは越冬しますか？

ヒトスジシマカは卵で越冬します(卵越冬)。なお、その卵を通じてデングウイルスが次世代の蚊に伝播した報告は国内外でありません。

Q13 ネッタシマカの特徴等について教えてください。

現在、ネッタシマカは国内には生息していません。かつては国内でも沖縄や小笠原諸島に生息し、熊本県牛深町には1944～1947年に一時的に生息していたことが記録されていますが、1955年以降は国内から消滅したとされています。ただ今日では、航空機によって国内に運ばれる例も確認されており、定着の可能性は皆無ではありません。

なお、ネッタシマカとヒトスジシマカが同所的に分布しているような熱帯・亜熱帯地域においては、ネッタシマカのウイルス媒介能はヒトスジシマカよりも高いとされています(ネッタシマカからのウイルスの検出率が高く、ヒトを吸血対象とする依存性が圧倒的に強いことがその理由です)。

(参考)

国立感染症研究所昆虫医科学部ホームページ

<http://www.nih.go.jp/niid/ja/from:lab/478:ent/3466:ent:photos.html>

ネッタシマカの写真

<http://www0.nih.go.jp/niid/entomology/pictures/aegypti/aegypti.html>

Q14 ネッタシマカは国内に定着できますか？

ネッタシマカの分布の北限は台湾の台中市周辺とされています。従って、国内では沖縄県の南方(石垣島・西表島など)以北の野外では定着できないと考えられます。しかし、空港ターミナルなど、一定の温度が維持されているような特別な場所では定着できるかもしれません。

なお、ネッタシマカにおいて、デングウイルスの経卵巣伝搬の可能性を示唆した報告はありますが(インドの乾季に捕集されたオス蚊や幼虫からウイルス遺伝子が検出された例)、その割合は非常に低く、次の流行を引き起こすことは極めて難しいと結論されています。

Q15 蚊に刺されないようにするにはどうしたらよいでしょうか？

ヒトスジシマカやネッタシマカは日中に活動し、ヤブや木陰などでよく刺されます。その時間帯に屋外で活動する場合は、長袖・長ズボンの着用を留意し、忌避剤の使用も推奨します。

Q16 日本でデング熱に感染する可能性はありますか？

日本に生息するヒトスジシマカもデングウイルスを媒介することができますので、流行地で感染した人が帰国し、症状がある期間は蚊に吸血されることにより、その蚊が周囲の方にウイルスを伝播する可能性は低いながらもあり得ます。帰国者(患者)の周囲の方でデング熱を疑うような症状があれば、渡航歴の有無にかかわらず検査を行うことも、場合によっては必要です。

## 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
		2013. 12. 16	該当なし	
一般的名称	新鮮凍結人血漿	研究報告の公表状況	公表国 フランス	使用上の注意記載状況・ その他参考事項等
販売名(企業名)	新鮮凍結血漿-LR「日赤」120(日本赤十字社) 新鮮凍結血漿-LR「日赤」240(日本赤十字社) 新鮮凍結血漿-LR「日赤」480(日本赤十字社)	Marchand E, Prat C, Jeannin C, Lafont E, Bergmann T, Flusin O, Rizzi J, Roux N, Busso V, Deniau J, Noel H, Vaillant V, Leparcoffart I, Six C, Paty MC. Euro Surveill. 2013 Dec 12;18(50):20661.		新鮮凍結血漿-LR「日赤」120 新鮮凍結血漿-LR「日赤」240 新鮮凍結血漿-LR「日赤」480  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	○フランスの土着性デング熱症例 2013年10月、ヒトスジシマカ( <i>Aedes albopictus</i> )の生息地である南フランスのプーシュ=デュ=ローヌ県で、50歳代女性検査技師がデング熱と診断された。患者は発症15日前からその地域を出ていないことや、職業感染の可能性が除外されたことから、当該地域の昆虫媒介による伝播の可能性が高い。これは、2010年にアルプ=マリティーム県で発生した2件の症例に続く、フランス本土における2番目の土着性デング熱症例の可能性がある。			
報告企業の意見	今後の対応			
フランスにおいて2番目となる土着性デング熱症例の報告である。	日本赤十字社では、輸血感染症対策として受付時に海外滞在歴の有無を確認し、帰国(入国)後4週間は献血不適としている。また、発熱などの体調不良者を献血不適としている。今後も引き続き、新興・再興感染症の発生状況等に関する情報の収集に努める。			

MedDRA/J Ver.16.1J

## RAPID COMMUNICATIONS

JRC2014T-001

## Autochthonous case of dengue in France, October 2013

E Marchand (aris-paca-cire@sns.santefr.fr), C Prat (C Jeannin), E Lafont, T Bergmann, O Flusin, J Rizzi, N Roux, V Busso, J Deniau, H Noel, V Vaillant, I Leparcoffart, C Six, M C Paty  
 1. Regional office of the French Institute for Public Health Surveillance (IRe Sud), Marseille, France  
 2. Institut de Recherche Biomédicale des Armées, National Reference Laboratory for arboviruses, Marseille, France  
 3. Entente interdépartementale pour la Démoustification du littoral Méditerranéen (EID méditerranéen), Public mosquito control agency, Montpellier, France  
 4. Regional Health Agency of Provence-Alpes-Côte d'Azur, Marseille, France  
 5. Laboratory Network Bioactif, Bouches-du-Rhône, France  
 6. Emergency services regional observatory of Provence-Alpes-Côte d'Azur, Hyères, France  
 7. French Institute for Public Health Surveillance (Institut de Veille Sanitaire, InVS), Saint-Maurice, France

Correspondence to: E Marchand (aris-paca-cire@sns.santefr.fr)  
 Article submitted on 3 October 2013 / published on 12 December 2013

In October 2013, autochthonous dengue fever was diagnosed in a laboratory technician in Bouches-du-Rhône, southern France, a department colonised by *Aedes albopictus* since 2010. After ruling out occupational contamination, we identified the likely chain of local vector-borne transmission from which the autochthonous case arose. Though limited, this second occurrence of autochthonous dengue transmission in France highlights that efforts should be continued to rapidly detect dengue virus introduction and prevent its further dissemination in France.

In October 2013, the French National Reference Laboratory for arboviruses (NRL) – hosted at the Institut de Recherche Biomédicale des Armées, Marseille – reported an autochthonous case of dengue fever to the Regional Health Authority of Provence-Alpes-Côte d'Azur. The case lived in the department of Bouches-du-Rhône, France. The national and regional health authorities initiated a multidisciplinary investigation to determine the source of infection of the case and the extent of possible dissemination of dengue virus (DENV).

## Case report

On 11 October 2013, a female laboratory technician in her early fifties, residing and working in the area of Aix-en-Provence, Bouches-du-Rhône department, developed sudden fever with incapacitating myalgia, predominantly in her legs. She had not left the department in the 15 days before onset of symptoms. Four days later, she developed a rash on her legs and consulted her general practitioner, who prescribed symptomatic treatment of fever and aches. As the symptoms persisted, she was taken to a hospital's emergency department on two days later. On admission to hospital, she was normotensive, with a body temperature of 38.4 °C. Laboratory analyses showed a normal white blood cell (7,200/ml; norm: 4,000–10,000 /ml) and platelet count (197,000/ml; norm: 150,000–450,000/

ml) and an elevated C-reactive protein level (145 mg/L; norm: 7.5 mg/L). As her condition had improved, despite the rash having expanded to her arms and back, she was discharged after 24 hours, with a diagnosis of 'probable viral infection'. She consulted a dermatologist three days later, who suspected an arboviral infection and sent blood samples to the NRL.

A panel of sera obtained during the acute and convalescent phases (days 6, 10, 14 and 35 after symptom onset) was investigated using in-house real-time reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) and serological assays (in-house IgM antibody capture (MAC)-enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and indirect IgG ELISA) for DENV and West Nile, chikungunya and Toscana viruses (Table). For the first serum sampled on day 6, the real-time RT-PCR for DENV was positive, with a high cycle threshold (Ct) value (indicating a very low viral load), serotyping by real-time RT-PCR was negative. DENV non-structural protein 1 (NS1) detection by rapid diagnostic test (SD Bioline) was negative, but IgM and IgG antibodies against DENV antigens were detected. IgM and IgG antibodies against DENV were also detected in the next two serum samples (on days 10 and 14). For the last serum specimen, sampled on day 35, only DENV-specific IgG antibodies were detected; the specificity of these antibodies was determined by seroneutralisation against DENV serotypes 1 to 4 (DENV-1 to 4) and West Nile virus [1]. For West Nile virus, DENV, DENV3 and DENV4, the 90% neutralisation titre was <1/20. A 90% neutralisation titre of 1/160 against DENV-2 was highly suggestive of an infection of this patient by DENV-2.

## Background

Infection with DENV – a member of the family *Flaviviridae*, genus *Flavivirus* – leading to dengue haemorrhagic fever and shock syndrome, is responsible for substantial morbidity and mortality in populations living in the tropics and among travellers to these





area where dengue was reported, leucopenia, thrombocytopenia, hepatic cytolysis, negative viral serology and negative rapid or blood smear tests for malaria. The NRL conducted DENV real-time RT-PCR and serology on the 15 blood samples still available from the 18 patients who met the selection criteria. All tested negative.

#### Vector-borne transmission

The patient reported no mosquito bites but remembered a sudden pricking sensation compatible with a mosquito bite on the evening of 3 October (eight days before symptom onset), when she was near her workplace in Bouches-du-Rhône. She reported no recent contact with travellers returning from an area with current epidemics or endemic for dengue.

A review of the surveillance database did not identify any case of imported dengue confirmed by the NRL in Bouches-du-Rhône since 1 August 2013. However, one suspected case had been notified in a neighbouring department in a woman who developed fever and a rash on 19 September, five days after returning from the Caribbean island of Guadeloupe, where a dengue outbreak was ongoing [17]. Sera collected on day 2 of her illness tested negative for DENV, West Nile, chikungunya and Saint Louis encephalitis viruses by our in-house real-time RT-PCR and serological assays. An entomological investigation of her residential area and places visited had been carried out on 24 September, before the negative test results were available. Among the places visited, the woman mentioned a short visit, the day before symptom onset, close to (less than 200 metres from) the workplace of the autochthonous case. Although an ovitrap placed nearby this workplace had been found colonised with 43 eggs of *Ae. albopictus* in late September 2013, no evidence of mosquito activity was found during an investigation on 23 September, hence no vector control measures were implemented at that time.

After the detection of the autochthonous case, we retested the serum sample of the suspected imported case by sero-specific real-time RT-PCR for DENV and by rapid diagnostic test for NS1 detection. An additional serum sample was collected on day 56 for serology testing. The NS1 test and the pan-DENV real-time RT-PCR were negative, the real-time RT-PCR for DEN-2 was positive with a high Ct value. In the later serum sample (day 56), only IgG antibodies against DENV were detected. These laboratory findings confirmed an infection with DEN-2 for this patient returning from Guadeloupe (considered the index case).

#### Control measures

Under the hypothesis of local vector-borne transmission, two places were chosen for identifying primary or secondary cases of DENV infection and for conducting immediate control measures: the autochthonous case's home, where she stayed while viraemic, and her

place of work close to which eggs of *Ae. albopictus* had been detected in September.

The local health authorities and vector control operators jointly carried out the following activities in an area of 200 metres around the autochthonous case's home and workplace: door-to-door case finding; any mosquito breeding sites treated by mechanical destruction or larvicide treatment sites; and adulticide sprayings. Physicians and laboratories in the area were asked to report any patients with symptoms compatible with DENV infection since 1 August, including sudden onset of fever ( $>38.5$  °C) and at least one pain symptom, including headache, arthralgia, myalgia, lower back pain or retro-orbital pain. Two suspected cases were identified. Neither tested positive for DENV by real-time RT-PCR or serology.

#### Discussion

This second report of autochthonous dengue in mainland France follows a cluster of two locally acquired cases in Alpes-Maritimes in 2010 [7]. Because our patient was a laboratory technician who daily collected blood specimens, we not only explored vector-borne local transmission of DENV but also thoroughly investigated potential occupational transmission. The latter hypothesis appears unlikely since, unlike the situation for other occupational dengue cases [14-16], our investigation pinpointed neither a viraemic or infected patient sampled nor any accidental exposure to blood at the laboratory during the likely exposure period of the case.

Several findings are in favour of vector-borne transmission in the Bouches-du-Rhône department. Firstly, our retrospective laboratory confirmation of an imported case of dengue, who had visited the immediate vicinity of the autochthonous case's workplace, while potentially viraemic (one day before symptom onset). Secondly, the 22-day delay between symptom onset of the imported and autochthonous case, which is compatible with the intrinsic (1-14 days) and extrinsic (10 days) incubation period for DENV [18]. Thirdly, the presence of *Ae. albopictus* eggs in the ovitraps in September, indicating the presence of the potential vector. Finally, laboratory confirmation of DENV infection of the same serotype, DEN-2, in both the autochthonous case and the case imported from Guadeloupe. In August to October 2013, DEN-2 was not the prevailing circulating serotype in Guadeloupe, but remained frequent [17].

The virological data presented in this paper on the two human cases of DENV infection do not follow the classical and average kinetics of viraemia and antibody response. The individual host response is known to be variable regarding the viral load in blood, the duration of viraemia and the duration of IgM detection and is also dependent on the DENV responsible for the infection [19,20]. Unfortunately, although viral RNA was detected in the acute phase sample of the autochthonous case,

we were unable to serotype and sequence the amplified product due to a very low viral load. Further comparison of the virus isolates by sequencing is therefore impossible. Two blind passages on Vero and C6/36 cell lines will be carried out to try to isolate the virus from the acute phase sera. NS1 was not detected for these two cases. However, the detection of NS1 is generally less sensitive than viral genome detection by real-time RT-PCR [20,21].

This local transmission of dengue highlights once again that mainland France is subject to overspill of dengue outbreaks, particularly from the French Antilles in the Caribbean. The implemented investigations and control measures were derived from a national plan against dengue and chikungunya that provides a framework for rapid review and exchange of information between epidemiological, entomological, laboratory and medical experts and decision-makers.

The autochthonous case was diagnosed only after a third and specialised medical consultation. We need therefore to further raise the awareness of physicians and laboratories regarding diagnosis of dengue in international travellers and the possibility of autochthonous transmission in areas where *Ae. albopictus* is established. Similarly, we should not discontinue our efforts to inform travellers to areas affected by dengue about individual protection against mosquito bites and early symptoms of dengue.

No further case could be related to this local transmission cycle of dengue in Bouches-du-Rhône. Although precautionary mosquito control was applied, this could very well have been a self-limiting viral dissemination since it occurred shortly before the end of the vector activity period in late November.

#### Conclusion

Although limited, this autochthonous transmission of DENV in southern France is a clear reminder that local transmission can be triggered in Europe by the introduction of the virus in areas colonised by *Ae. albopictus*, as it occurred already in 2010 in Nice. The French preparedness and response plan, in operation since 2006, proved pivotal to detect and control this threat.

Reducing the risk of local DENV dissemination to zero appears an elusive goal in the context of the continuous spread of *Ae. albopictus*. Coordinated enhanced surveillance and response are therefore the backbone of the prevention of the occurrence of autochthonous cases and the containment of possible outbreaks. Such a plan requires, however, multidisciplinary expertise and resources and should be adapted wisely and regularly to ensure its sustainability and efficiency. In addition, innovative vector control methods and further elucidation of the dynamics of DENV transmission in non-endemic areas are needed to keep Europe safe from dengue.

#### Acknowledgements

The biomedical laboratories involved in the enhanced surveillance: Cerba (Saint-Ouen l'Aumône), Biomnis (Lyon) and La Timone (Marseille), part of the national laboratory surveillance system, and the private laboratories in southern France; vector control professionals at EID Méditerranée; Dr Didier Fontenille, Yvon Perrin entomological expert at IRD (French Institute for Research and Development), Montpellier, France; Dr Catherine Guichard, Directorate General for Health, Ministry of Health, Paris, France; Dr Henriette De Valk and Lisa King for reviewing our manuscript, InVS, France. The patients and their relatives, colleagues and neighbours approached for this investigation.

#### Conflict of interest

None declared.

#### Authors' contributions

All authors contributed to the writing of this manuscript and approved the final version. Elodie Marchand, Caroline Six, Harold Noel, Veronique Vaillant, Marie-Claire Paty drafted the manuscript and contributed to the epidemiological investigation. Caroline Six, Harold Noel designed the protocol for the rapid survey. Thibaut Bergmann, Nicolas Roux, Jeanne Rizzi contributed to the epidemiological investigation. Elisabeth Lafont and Valerie Busso conducted interviews and took part in the clinical management of the patients. Joël Deniau contributed to the epidemiological investigation and managed the national database for enhanced surveillance of dengue and chikungunya. Caroline Six coordinated the investigation at the regional level. Christine Prat, Olivier Flusin, Isabelle Leparc-Goffart were central in the laboratory investigation. Marie-Claire Paty coordinated the investigation at the national level.

#### References

1. World Health Organization (WHO). Guidelines for plaque reduction neutralization testing of human antibodies to dengue viruses. Geneva: WHO; 2007. WHO/IWB/07.07. Available from: [http://whqlibdoc.who.int/hq/2007/who\\_iwb\\_07.07\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/hq/2007/who_iwb_07.07_eng.pdf)
2. Gautrel P, Cramer JP, Field V, Caumes E, Jensenius M, Okrania-Klotsas E, et al. Infectious diseases among travellers and migrants in Europe. Euro Trav Net 2010. Euro Surveill. 2012;17(26):pii=20205. Available from: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20205>
3. World Health Organization (WHO). Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. Geneva: WHO; 2009. WHO/HTM/NTD/DEN/2009.1. Available from: [http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789241547871\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789241547871_eng.pdf)
4. Bhatt S, Gething PW, Brady OJ, Messina JP, Farlow AW, Moyes CL, et al. The global distribution and burden of dengue. Nature. 2013;496(7446):504-7. <http://dx.doi.org/10.1038/nature12060> PMID:23563266 PMCID:PMC3651993
5. Schaffner F, Medlock JM, Van Bortel W. Public health significance of invasive mosquitoes in Europe. Clin Microbiol Infect. 2013;19(8):685-92. <http://dx.doi.org/10.1111/1469-0691.12189> PMID:23574618
6. Paupy C, Delatte H, Bagny L, Corbet V, Fontenille D. Aedes albopictus, an arbovirus vector: from the darkness to the light. Microbes Infect. 2009;11(14-15):1177-85. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micinf.2009.05.005> PMID:19450706
7. La Roche G, Souaré S, Armengaud A, Peloux-Petiot F, Delaunay P, Després P, et al. First two autochthonous dengue virus infections in metropolitan France, September 2010. Euro Surveill. 2010;15(39):pii=19676. Available from: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19676> PMID:20929659
8. Schmidt-Chanasit J, Haditsch M, Schöneberg I, Günther S, Stark K, Frank C. Dengue virus infection in a traveller returning from Croatia to Germany. Euro Surveill. 2010;15(40):pii=19677.

Available from: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19677>  
PMid:20946759

9. Alves MJ, Fernandes PL, Amaro F, Osório H, Luz T, Parreira P, et al. Clinical presentation and laboratory findings for the first autochthonous cases of dengue fever in Madeira island, Portugal, October 2012. *Euro surveill.* 2013;18(6):pii=20398. Available from: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20398>  
PMid:23410256
10. Delaunay P, Mathieu B, Marty P, Fauran P, Schaffner F. [Chronology of the development of *Aedes albopictus* in the Alpes-Maritimes Department of France, from 2002 to 2005]. *Med Trop (Mars)*. 2007;67(3):310-1. French.
11. Delaunay P, Jeannin C, Schaffner F, Marty P. [News on the presence of the tiger mosquito *Aedes albopictus* in metropolitan France]. *Arch Pediatr*. 2009;16 Suppl 2:S66-S71. French.  
[http://dx.doi.org/10.1016/S0929-693X\(09\)75304-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0929-693X(09)75304-7)
12. Instruction N° DGS/R1/2013/182 du 30 avril 2013 mettant à jour le guide relatif aux modalités de mise en oeuvre du plan anti-dissémination du chikungunya et de la dengue en métropole. [Order updating the French preparedness and response plan against expansion of chikungunya and dengue fever in mainland France]. Paris: Ministry of health; 2013. French. Available from: [http://circulaires.legifrance.gouv.fr/pdf/2013/05/cir\\_37044.pdf](http://circulaires.legifrance.gouv.fr/pdf/2013/05/cir_37044.pdf)
13. Décret n° 2006-433 du 24 April 2006 complétant la liste des maladies faisant l'objet d'une transmission obligatoire de données individuelles à l'autorité sanitaire. [Decree updating the list of statutory notified diseases with transmission of individual data to the health authority]. Paris: République française; 2006. Available from: <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT00000455594>
14. Clark BM, Molton JS, Habib T, Williams DT, Weston EL, Smith DW. Dengue virus infection in Australia following occupational exposure: a reflection of increasing numbers of imported cases. *J Clin Virol*. 2012;54(4):376-7.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcv.2012.04.012>  
PMid:22621878
15. Nemes Z, Kiss G, Madarassi EP, Peterfi Z, Ferenczi F, Bakonyi T, et al. Nosocomial transmission of dengue. *Emerg Infect Dis*. 2004;10(10):1880-1.  
<http://dx.doi.org/10.3201/eid1010.040464>  
PMid:15515246 PMCID:PMC3323269
16. Wagner D, de With K, Huzly D, Hufert F, Weidmann M, Breisinger S, et al. Nosocomial acquisition of dengue. *Emerg Infect Dis*. 2004;10(10):1872-3.  
<http://dx.doi.org/10.3201/eid1010.031037>  
PMid:15504282 PMCID:PMC3323263
17. Situation épidémiologique de la dengue en Guadeloupe. Point au 27 novembre 2013. [Epidemiological situation of dengue fever in Guadeloupe. November 27th, 2013]. Fort-de-France, Martinique, Saint-Maurice: Institut de Veille Sanitaire; 2013. French. Available from: [http://www.invs.sante.fr/fr/content/download/80339/292895/version/35/file/pe\\_dengue\\_guadeloupe\\_271113.pdf](http://www.invs.sante.fr/fr/content/download/80339/292895/version/35/file/pe_dengue_guadeloupe_271113.pdf)
18. Chan M, Johansson MA. The incubation periods of Dengue viruses. *PLoS One*. 2012;7(11):e50972.  
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0050972>  
PMid:23226436 PMCID:PMC3511440
19. Tang Y, Kou Z, Zhang F, Yao X, Liu S, Ma J, et al. Both viremia and cytokine levels associate with the lack of severe disease in secondary dengue 1 infection among adult Chinese patients. *PLoS One*. 5(12):e15631.  
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0015631>  
PMid:21206915 PMCID:PMC3012067
20. Duyen HT, Ngoc TV, Ha do T, Hang VT, Kieu NT, Young PR, et al. Kinetics of plasma viremia and soluble nonstructural protein 1 concentrations in dengue: differential effects according to serotype and immune status. *J Infect Dis*. 2011;203(9):1292-300.  
<http://dx.doi.org/10.1093/infdis/jtr104>  
PMid:21335562 PMCID:PMC3069728
21. Duong V, Ly S, Lorn Try P, Tuiskunen A, Ong S, Chroaeng N, et al. Clinical and virological factors influencing the performance of a NS1 antigen-capture assay and potential use as a marker of dengue disease severity. *PLoS Negl Trop Dis*. 2011;5(7):e1244.  
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0001244>  
PMid:21811645 PMCID:PMC3139664

医薬品 研究報告 調査報告書

識別番号・報告回数	報告日	第一報入手日	新医薬品等の区分	総合機構処理欄
一般的名称			公表国	使用上の注意記載状況・ その他参考事項等
販売名(企業名)	研究報告の 公表状況	第 61 回日本ウイルス学会学術集会(2013. 11. 10, 11, 12)/ 兵庫県神戸市()197/()	日本	
<p>重症熱性血小板減少症候群(severe fever with thrombocytopenia syndrome, SFTS)はブニヤウイルス科フレボウイルス属に分類される新規ウイルス(SFTS ウイルス、SFTSV)によって引き起こされるダニ媒介性感染症で、致死率10%を超える重篤な疾患を引き起こす。数年前に中国で最初に発生が確認され、国内においても2013年1月、SFTS患者の存在が明らかにされた。このことから、SFTSの診断法を確立し、国内の本感染症の病態解明、疫学調査、感染リスクの評価を進めていく必要がある。本研究では、SFTSV感染細胞および組換え核蛋白(rNP)を用いたSFTS血清診断法を開発し、その有用性について検討した。SFTSV感染細胞を抗原としたIFAおよびIgG-ELISA法により、患者の回復期血清から抗SFTSV抗体が検出され、両者の結果はよく一致した。急性期のSFTS患者で、血清中のSFTSV遺伝子検出RT-PCRで陽性を呈した2検体からも抗体が検出された。SFTSV rNP発現HeLa細胞を用いたIFAおよびrNPを抗原としたIgG-ELISA法でも、抗SFTSV抗体が検出可能であったが、ウイルス感染細胞を用いた場合に比べその抗体価は低く、感染性SFTSVを抗原とした抗体検出法に比べ感度は低かった。ウイルス感染細胞を抗原とした血清学的診断法は、血清中SFTSV抗体を高感度に検出することができ、SFTSV感染のサーベイランスに有用であると考えられた。rNPを用いた血清診断法は、感染性ウイルスを用いないため安全に抗原を調整できるものの、感度を向上させるため抗原の発現方法の改良等さらなる検討が必要である。</p>				
報告企業の意見		今後の対応		
<p>重症熱性血小板減少症候群(SFTS)は、SFTSVによって引き起こされるダニ媒介性感染症で、国内においても2013年1月に患者が確認された。本情報は、国立感染症研究所における本疾患の血清学的診断法の開発に関する情報である。現時点まで血漿分画製剤から伝播が疑われた報告はないが、今後の情報に注目していきたい。</p>		今後とも SFTSV に関する情報等に留意していく。		

73

14

01-6-12  
重症熱性血小板減少症候群(SFTS)の血清学的  
診断法の開発

福岡 藍子<sup>1)</sup>、福土 秀雄<sup>2)</sup>、谷 英樹<sup>3)</sup>、吉河 智成<sup>1)</sup>、  
谷口 裕<sup>1)</sup>、下島 昌幸<sup>1)</sup>、森川 茂<sup>1)</sup>、前田 健<sup>1)</sup>、  
西條 政幸<sup>1)</sup>

- 1) 国立感染症研究所 ウイルス第一課
- 2) 国立感染症研究所 細菌科第5課
- 3) 山口大学 共同獣医学部 獣医微生物学講座

【目的と意義】

重症熱性血小板減少症候群(severe fever with thrombocytopenia syndrome, SFTS) はブニヤウイルス科フレボウイルス属に分類される新規ウイルス(SFTSウイルス、SFTSV)によって引き起こされるダニ媒介性感染症で、致死率10%を超える重篤な疾患を引き起こす。数年前に中国で最初に発生が確認され、国内においても2013年1月、SFTS患者の存在が明らかにされた。このことから、SFTSの診断法を確立し、国内の本感染症の病態解明、疫学調査、感染リスクの評価を進めていく必要がある。本研究では、SFTSV感染細胞および組換え核蛋白(rNP)を用いたSFTS血清診断法を開発し、その有用性について検討した。

【材料と方法】

SFTS疑い患者の急性期および回復期に採取された血清を用いた。SFTSV感染Vero細胞を固定して用いた間接免疫蛍光抗体法(IFA)およびIFA、SFTSV感染HeLa細胞ライゼートを抗原としたIgG-ELISA法により、血清中SFTSV抗体価測定を行った。また、SFTSV rNP発現HeLa細胞、バキュロウイルス発現系で発現させたrNPを抗原として、感染性SFTSVを抗原としない抗体検出法について、その診断における有用性を検討した。

【結果】

SFTSV感染細胞を抗原としたIFAおよびIgG-ELISA法により、患者の回復期血清から抗SFTSV抗体が検出され、両者の結果はよく一致した。急性期のSFTS患者で、血清中のSFTSV遺伝子検出RT-PCRで陽性を呈した2検体からも抗体が検出された。SFTSV rNP発現HeLa細胞を用いたIFAおよびrNPを抗原としたIgG-ELISA法でも、抗SFTSV抗体が検出可能であったが、ウイルス感染細胞を用いた場合に比べその抗体価は低く、感染性SFTSVを抗原とした抗体検出法に比べ感度は低かった。

【考察】

ウイルス感染細胞を抗原とした血清学的診断法は、血清中SFTSV抗体を高感度に検出することができ、SFTSV感染のサーベイランスに有用であると考えられた。rNPを用いた血清診断法は、感染性ウイルスを用いないため安全に抗原を調整できるものの、感度を向上させるため抗原の発現方法の改良等さらなる検討が必要である。

医薬品 研究報告 調査報告書

識別番号・報告回数		報告日	第一報入手日 2014年2月24日	新医薬品等の区分 該当なし。	総合機構処理欄
一般的名称	別紙のとおり。	研究報告の 公表状況	Emerg Infect Dis. 2014;20:211-216	公表国 米国	
販売名(企業名)	別紙のとおり。				
研究報告の概要	<p>問題点：米国で、暫定的に Sosuga virus と命名された新規な paramyxovirus 科のウイルスが確認された。</p> <p>暫定的に Sosuga virus と命名された新規な paramyxovirus 科のウイルスが、南スーダン及びウガンダにおける調査から帰国したアメリカ人野生生物学者から検出された。彼女は調査地でげっ歯類及びコウモリを捕獲しており、発熱、倦怠感、関節痛、広範囲の発疹、および出血の症状を呈したが、入院14日目に退院した。患者検体について、いくつかの既知の病原体に係る検査が実施されたがいずれも陰性であり、大規模な遺伝子配列解析及びメタゲノム解析の結果、上記の新規なウイルスが確認された。このウイルスはオオコウモリから分離された風疹様ウイルスに最も近いウイルスであったが、患者の感染源は不明である。</p>				使用上の注意記載状況・ その他参考事項等
	報告企業の意見				今後の対応
別紙のとおり。		今後とも関連情報の収集に努め、本剤の安全性の確保を図っていきたい。			

MedDRA/J ver. 17.0

別紙

一般的名称	①人血清アルブミン、②人血清アルブミン、③人血清アルブミン*、④人免疫グロブリン、⑤人免疫グロブリン、⑥乾燥ペプシン処理人免疫グロブリン、⑦乾燥スルホ化人免疫グロブリン、⑧乾燥スルホ化人免疫グロブリン、⑨乾燥スルホ化人免疫グロブリン、⑩乾燥スルホ化人免疫グロブリン、⑪乾燥スルホ化人免疫グロブリン*、⑫乾燥濃縮人活性化プロテインC、⑬乾燥濃縮人血液凝固第Ⅳ因子、⑭乾燥濃縮人血液凝固第Ⅳ因子、⑮乾燥濃縮人血液凝固第Ⅳ因子、⑯乾燥濃縮人血液凝固第Ⅳ因子、⑰乾燥濃縮人血液凝固第Ⅳ因子、⑱乾燥濃縮人血液凝固第Ⅳ因子、⑲乾燥抗破傷風人免疫グロブリン、⑳抗HBs人免疫グロブリン、㉑抗HBs人免疫グロブリン、㉒抗HBs人免疫グロブリン、㉓トロンピン、㉔トロンピン、㉕トロンピン、㉖フィブリノゲン加第ⅩⅢ因子*、㉗フィブリノゲン加第ⅩⅢ因子、㉘乾燥濃縮人アンチトロンピンⅢ、㉙ヒスタミン加入免疫グロブリン製剤、㉚人血清アルブミン*、㉛人血清アルブミン*、㉜乾燥ペプシン処理人免疫グロブリン*、㉝乾燥濃縮人アンチトロンピンⅢ
販売名(企業名)	①献血アルブミン20「化血研」、②献血アルブミン25「化血研」、③人血清アルブミン「化血研」*、④ガンマーグロブリン筋注450mg/3mL「化血研」、⑤ガンマーグロブリン筋注1500mg/10mL「化血研」、⑥献血グロブリン注射用2500mg「化血研」、⑦献血ベニコロンーⅠ静注用500mg、⑧献血ベニコロンーⅠ静注用1000mg、⑨献血ベニコロンーⅠ静注用2500mg、⑩献血ベニコロンーⅠ静注用5000mg、⑪ベニコロン*、⑫注射用アナクトC2.500単位、⑬コンファクトF注射用250、⑭コンファクトF注射用500、⑮コンファクトF注射用1000、⑯ノバクトM静注用400単位、⑰ノバクトM静注用800単位、⑱ノバクトM静注用1600単位、⑲テタノセーラ筋注用250単位、⑳ヘパトセーラ筋注200単位/mL、㉑ヘパトセーラ筋注200単位/1mL、㉒ヘパトセーラ筋注1000単位/5mL、㉓トロンピン「化血研」、㉔献血トロンピン経口・外用5千「化血研」、㉕献血トロンピン経口・外用1万「化血研」、㉖ボルヒール*、㉗ボルヒール組織接着用、㉘アンスロピンP500注射用、㉙ヒスタグロビン皮下注用、㉚アルブミン20%化血研*、㉛アルブミン5%化血研*、㉜静注グロブリン*、㉝アンスロピンP1500注射用
報告企業の意見	<p>paramyxovirus 科のウイルスは150~350nmの多形性で、核酸は一本鎖RNA、エンベロープを有するウイルスであり、ムンプスウイルスや麻疹ウイルス等が知られている。</p> <p>今回の報告は、米国で、南スーダン及びウガンダにおける調査から帰国した野生生物学者が発熱や倦怠感等の症状を呈して入院し、その患者検体から新規な paramyxovirus 科のウイルスが確認された、というものである。</p> <p>上記製剤の製造工程には、冷エタノール分画工程及びウイルス除去膜ろ過工程といった原理の異なるウイルスクリアランス工程が導入されており、各工程のウイルスクリアランス効果は「血漿分画製剤のウイルスに対する安全性確保に関するガイドライン(医薬第1047号、平成11年8月30日)」に基づく、モデルウイルスを用いたウイルスプロセスバリデーションにより確認されている。今回報告した新規な paramyxovirus 科のウイルスのモデルウイルスには、エンベロープの有無、核酸の種類等から、ウシウイルス性下痢ウイルス(BVDV)が該当すると考えられるが、上記工程のBVDVクリアランス効果については上記バリデーションにより確認されている。また、これまでに上記製剤による新規な paramyxovirus 科のウイルスへの感染報告例は無い。</p> <p>以上の点から、上記製剤は新規な paramyxovirus 科のウイルスへのウイルス感染に対する安全性を確保していると考えられる。</p>

\*：現在製造を行っていない。

# Novel Paramyxovirus Associated with Severe Acute Febrile Disease, South Sudan and Uganda, 2012

César G. Albariño, Michael Foltzer, Jonathan S. Towner, Lory A. Rowe, Shelley Campbell, Carlos M. Jaramillo, Brian H. Bird, DeeAnn M. Reeder, Megan E. Vodzak, Paul Rota, Maureen G. Metcalfe, Christina F. Spiropoulou, Barbara Knust, Joel P. Vincent, Michael A. Frace, Stuart T. Nichol, Pierre E. Rollin, and Ute Ströher

In 2012, a female wildlife biologist experienced fever, malaise, headache, generalized myalgia and arthralgia, neck stiffness, and a sore throat shortly after returning to the United States from a 6-week field expedition to South Sudan and Uganda. She was hospitalized, after which a maculopapular rash developed and became confluent. When the patient was discharged from the hospital on day 14, arthralgia and myalgia had improved, oropharynx ulcerations had healed, the rash had resolved without desquamation, and blood counts and hepatic enzyme levels were returning to reference levels. After several known suspect pathogens were ruled out as the cause of her illness, deep sequencing and metagenomics analysis revealed a novel paramyxovirus related to rubula-like viruses isolated from fruit bats.

Paramyxoviruses comprise a large family of viruses, including pathogens that cause severe disease in humans (1). Worldwide, >100 paramyxoviruses have been identified in bats and rodents (2–4). Among these, few have been shown to be pathogenic to humans, possibly because of limited host range and/or infrequent exposure. We describe a novel rubula-like virus that was associated with a severe acute febrile illness in a woman. The patient was a wildlife biologist who had participated in a 6-week field expedition to South Sudan and Uganda. During this expedition, she had been exposed to bats and rodents of >20 species while wearing different levels of personal protective equipment.

Author affiliations: Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, USA (C.G. Albariño, J.S. Towner, L.A. Rowe, S. Campbell, B.H. Bird, P. Rota, M.G. Metcalfe, C.F. Spiropoulou, B. Knust, J.P. Vincent, M.A. Frace, S.T. Nichol, P.E. Rollin, U. Ströher); Geisinger Medical Center, Danville, Pennsylvania, USA (M. Foltzer, C.M. Jaramillo); and Bucknell University, Lewisburg, Pennsylvania, USA (D.M. Reeder, M.E. Vodzak)

DOI: <http://dx.doi.org/10.3201/eid2002.131620>

## Clinical Presentation

During the summer of 2012, a 25-year-old female wildlife biologist participated in a 6-week field expedition to South Sudan and Uganda, where she traveled to remote rural areas collecting bats and rodents for ecological research. In the course of her duties, she manipulated animals in traps and mist nets, performed dissections, collected blood and tissues, and visited caves with large bat populations. She received no injuries from sharp objects and no bites or scratches from the animals with which she was working. She occasionally used respiratory protection when working with animals and specimens, and she wore a respirator while in caves. During her trip, she had no known contact with ill members of the field team, no contact with health care facilities, and no sexual contacts. She had been vaccinated against hepatitis A and B, yellow fever, measles, mumps, rubella, rabies, polio, tetanus/diphtheria, and typhoid fever, and she fully complied with a malaria prophylaxis regimen of atovaquone/proguanil. Her medical history included migraines and treatment of presumptive malaria with artemether/lumefantrine during a similar expedition the previous year.

Five days after returning to the United States, the woman was evaluated in the emergency department for a 2-day history of fever, malaise, headache, generalized myalgia and arthralgia, neck stiffness, a metallic taste, and sore throat. Results of rapid malaria test, performed on the day of fever onset, were negative. Other laboratory results and the patient's vital signs at the time of admission are summarized in the Table. The patient seemed to be fatigued but alert and oriented; she was afebrile, and she had no nuchal rigidity or focal neurologic deficits. Mild erythema of the soft palate without ulcerations or exudates was noted. The spleen tip was palpable despite absence of adenopathy.

Examination of heart, abdomen, and lungs (including chest radiographs) revealed no abnormalities. No rash or

## RESEARCH

Table. Vital signs and laboratory results for patient infected with a novel paramyxovirus related to rubula-like viruses isolated from fruit bats

DSO	DH	Max temp	Max pulse	SBP	WBC	Plate	Creat	AST	ALT	LDH	TB	PT/INR ratio	TG	Ferr	qRT-PCR, Ct†	IgM ELISA†	IgG ELISA†
2	1	40.1	90	112	1.62	115	0.8	93	19	687	0.2						
3	2	40.1	79	112	1.53	93	0.7	133	20		0.1	17.2/1.45			29.5	<50	<50
4	3	40.4	77	103	1.06	77	0.6	164	28		0.1	15.8/1.29	120				
5	4				1.02	65	0.7	319	134		0.1	13.6/1.06					
6	5	38.6	77	102	0.95	62	0.6	615	261		0.1	13.7/1.07	127	17,840			
7	6				1.46	79	0.5	589	298		0.2	14.4/1.14		7,309			
8	7				1.64	84	0.5	516	299		0.1	15.5/1.26		3,371			
9	8				0.96	123	0.5	342	259		0.1	16.9/1.41			36.3	≥1,600	≥1,600
10	9				1.20	154	0.4	170	186		0.1	17.4/1.47			36.9	≥1,600	≥1,600
11	10				2.19	222	0.4	185	188		0.1	14.7/1.18			Neg	≥1,600	≥1,600
12	11				2.61	220	0.4	107	149		0.2	13.2/1.02			Neg	≥1,600	≥1,600
13	12				5.62	335	0.4								Neg		
14	13				5.79	387	0.4								Neg		
15	14	36.8	67	98	4.71	437	0.5						212		Neg	≥1,600	≥1,600
30					3.71	221		19	15	0.3							
60					5.44	348								12.4	Neg	≥400	≥1,600

\*Shading indicates values outside reference range; blank cells indicate data not obtained. DSO, days from symptom onset; DH, day of hospitalization; max temp, maximum temperature, °C; max pulse; maximum pulse rate, beats/minute; SBP, systolic blood pressure, mm Hg; WBC, leukocytes, × 1,000/μL; plate, platelets × 1,000/μL; creat, creatinine, mg/dL; AST, aspartate aminotransferase, IU/L; ALT, alanine aminotransferase, IU/L; LDH, lactate dehydrogenase, IU/L; TB, total bilirubin, mg/dL; PT/INR, prothrombin time/international normalized ratio; TG, triglycerides, g/dL; ferr, ferritin, ng/mL; qRT-PCR, quantitative reverse transcription PCR; Ct, cycle threshold; neg, negative.

†Assays were developed after the virus genome was determined.

synovitis was noted. Treatment with intravenous ceftriaxone was begun for possible typhoid fever, and artemether/lumefantrine was continued for presumptive malaria.

On hospital day 2, a maculopapular rash erupted over the patient's trunk (Figure 1, panel A), several small aphthous ulcers appeared on her soft palate, and she had mild diarrhea. As long as the fever persisted, clear pulse/temperature dissociation was present (positive Paget sign); however, hemodynamics, oxygenation, and renal function were stable. Doxycycline was added for the expanded differential diagnosis of a rickettsial illness or plague. On hospital day 3, fever, headache, and myalgia persisted, and the patient experienced bloody emesis, mild diarrhea positive for occult blood but without frank hematochezia or melena, and minimal diffuse abdominal tenderness. Her menstrual period occurred without substantial menorrhagia. The rash became confluent; a centrifugal distribution and prominent petechia appeared at sites of trauma or pressure.

The possibility of hemophagocytosis was considered, and a bone marrow biopsy sample was obtained on day 4. The sample showed a mild increase in macrocytic hemophagocytosis and pancytopenia with a hypocellular marrow with myeloid hyperplasia and erythroid hypoplasia (Figure 1, panel B).

The fever slowly but progressively decreased, and the patient improved over the next few days; the last recorded fever was on hospital day 9. Abdominal pain and diarrhea resolved. Ceftriaxone was discontinued after 8 days. When the patient was discharged on hospital day 14, arthralgia and myalgia had improved, oropharynx ulcerations had healed, the rash had resolved without

desquamation, and blood counts and hepatic enzyme levels were returning to reference limits. Considerable sequelae (myalgia, arthralgia, headache, malaise, and fatigue) persisted for several months.

## Diagnostic Workup

The initial suspected diagnosis was hemophagocytic syndrome (hemophagocytic lymphohistiocytosis). This clinical syndrome has been associated with a variety of viral, bacterial, fungal, and parasitic infections, as well as collagen-vascular diseases and malignancies. Initial diagnostic testing for various infectious diseases included blood screening for respiratory viruses, HIV, cytomegalovirus, and malaria parasites; all results were negative.

On hospital day 2, a diagnosis of a viral hemorrhagic fever was considered, and blood specimens were sent to the Centers for Disease Control and Prevention (CDC) for testing. Molecular testing results were negative for rickettsiae, filoviruses (Marburgviruses and Ebolaviruses), selected bunyaviruses (Rift Valley fever virus, Crimean Congo hemorrhagic fever virus), arenaviruses (Lassa, Lujo, and lymphocytic choriomeningitis viruses), and several arboviruses (yellow fever, dengue, O'nyong-nyong, chikungunya, and Zika viruses).

A pathogen-discovery deep-sequencing protocol was followed, as described (5,6). In brief, total RNA was extracted from blood and serum samples obtained 3 days after symptom onset; RNA was nonspecifically amplified with previously described primers (7). The cDNA library was sequenced on a 454 FLX Genome Sequencer (Roche Diagnostics, Indianapolis, IN, USA). Unassembled sequences



Figure 1. A) Maculopapular eruption observed on the back and arms of 25-year-old female wildlife biologist infected with a novel paramyxovirus related to rubula-like viruses isolated from fruit bats, on hospitalization day 2. B) Bone marrow biopsy sample showing macrocytic hemophagocytosis (possible granulocyte infiltration).

were translated and compared with the nonredundant protein database from the National Center for Biotechnology Information by using a BLASTx algorithm ([www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi)). The sequence reads linked to the BLASTx results were distributed into taxa by using MEGAN (8). Metagenomic analysis revealed a novel paramyxovirus in the patient's blood and serum; the virus was most closely related to Tuhoko virus 3, a rubula-like virus (family *Paramyxoviridae*) recently isolated from *Rousettus leschenaultii* fruit bats in southern China (4). The next-generation sequence reads with homology to Tuhoko virus 3 covered ≈25% of the expected complete virus genome. Based on the sequences obtained, a series of primers were designed to amplify overlapping fragments spanning the complete genome of this novel

virus. A detailed list of primers is available upon request. Amplicons of different sizes were obtained by standard reverse transcription PCR (RT-PCR) and sequenced by the standard Sanger method (5,6).

This novel paramyxovirus is provisionally named Sosuga virus in recognition of its probable geographic origin (South Sudan, Uganda). The complete genome of Sosuga virus was 15,480 nt long and conformed to the paramyxovirus rule of 6 (1). The genome organization (Figure 2, panels A, B) resembled that of most paramyxoviruses, containing 6 genes, *N*, *V/P*, *M*, *F*, *HN*, and *L*, encoding the 7 viral proteins: nucleocapsid (N), V protein (V), phosphoprotein (P), matrix protein (M), fusion protein (F), hemagglutinin-neuraminidase (HN), and polymerase (L). The sequence of the RNA editing site in the *V/P* gene is identical to that of Tuhoko virus 3 (4). The faithful transcription of *V/P* generates the V mRNA, and a GG insertion at the editing site generates the P mRNA. In addition, the terminal 5' and 3' sequences of the virus were experimentally determined (Figure 2, panel C) by rapid amplification of cDNA ends as described (9).

Pairwise comparison of the full-length sequence of Sosuga virus with the closest related viruses showed 61.6%, 53.1%, and 51.4% identities, respectively, with Tuhoko virus 3, Achimota virus 1, and Achimota virus 2 (Achimota viruses were isolated from the *Eidolon helvum* fruit bat in Ghana) (3). When the deduced amino acid sequences of Sosuga virus were compared with those of Tuhoko virus, 3 proteins revealed overall amino acid identities ranging from 57.4% (HN) to 84% (N). Phylogenetic analysis of Sosuga virus and other paramyxoviruses clearly showed that Sosuga virus clusters with other bat-borne rubula-like viruses, which are closely related to rubulaviruses but have not yet been classified as such (Figure 2, panel D).

#### Virus Isolation

Virus isolation was attempted by inoculating monolayers of Vero-E6, Vero-SLAM, and H292 cells (mucoepidermoid carcinoma cells from human lungs) with patient blood and serum collected 3 days after symptom onset, but no virus isolate was obtained. As an alternative, 10 μL of the blood sample was also inoculated intracranially and intraperitoneally into 2-day-old suckling mice, which were then observed for 28 days for signs of illness. Neurologic signs developed 9–10 days after inoculation in 2 of the 20 mice; these 2 mice were euthanized 2 days later. To confirm the presence of the virus, we extracted total RNA from liver, spleen, and brains of the euthanized animals and used it as input in a specific RT-PCR designed to amplify a 2,188-bp fragment partially spanning the virus *HN* and *L* genes. Consistent with virus replication and observed neurologic signs, viral RNA was found in the brain but not in liver or spleen samples (Figure 3, panel A).

#### RESEARCH

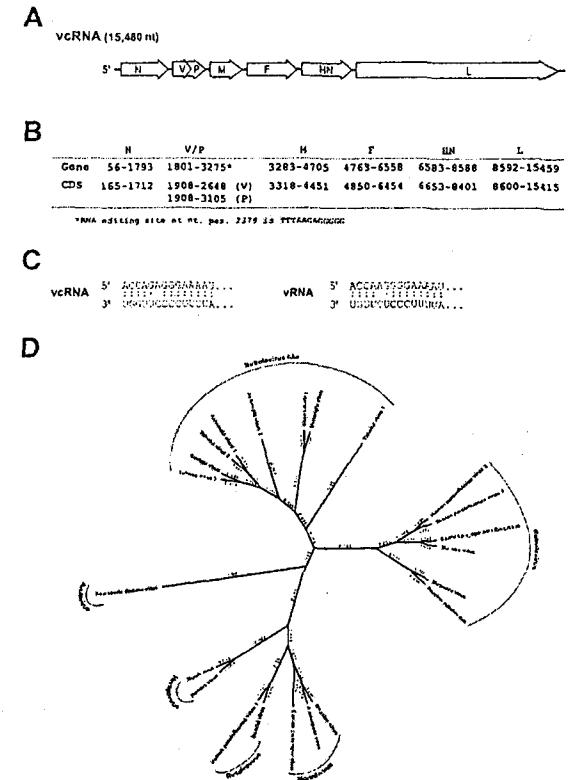


Figure 2. A) Organization of the viral genome of novel paramyxovirus related to rubula-like viruses isolated from fruit bats was determined from the full-length sequence. B) Localization of the predicted viral genes and open reading frames (ORFs). The *V/P* edition site is predicted from the similarity to Tuhoko virus 3. C) Terminal sequences were determined by standard rapid amplification of cDNA ends (RACE) methods. The complementarity of terminal sequences is shown in vrNA and vcRNA sense. D) Amino acid sequences of the nucleocapsid (N) protein of 22 representative paramyxovirus sequences were aligned by using the MUSCLE algorithm (CLC Genomics Workbench version 6.0.1; CLC bio, Cambridge, MA, USA). The phylogenetic analysis was conducted with a Bayesian algorithm (Mr. Bayes, Geneious version 6.1.5, [www.geneious.com](http://www.geneious.com)). NP sequences were extracted from the complete genomic sequences in GenBank: KF774436 (Sosuga virus [SosV]), GU128082 (Tuhoko virus 3), GU128081 (Tuhoko virus 2), GU128080 (Tuhoko virus 1), AF298895 (Toman virus), NC\_007620 (Menangle virus), JX051319 (Achimota virus 1), JX051320 (Achimota virus 2), NC\_003443 (human parainfluenza virus type 2), AF052755 (slimian parainfluenza virus 5), HQ860095 (bat paramyxovirus Epo\_spe/AR1/DRC/2009), NC\_002200 (mumps virus), NC\_009489 (Mapuera virus), NC\_009640 (porcine rubulavirus), NC\_001498 (measles virus), NC\_008296 (rinderpest virus), NC\_001921 (canine distemper virus), NC\_001552 (Sendai virus), NC\_003461 (human parainfluenza virus type 1), NC\_002728 (Nipah virus), NC\_001906 (Henra virus), NC\_002617 (Newcastle disease virus), vcRNA, viral complementary RNA; N, nucleocapsid protein; V/P, V protein; M, matrix protein; F, fusion protein; HN, hemagglutinin-neuraminidase; L, molecular weight DNA ladder; CDS, coding sequence; nt pos. nucleotide position; vrNA, viral RNA.

Brain homogenates from the euthanized mice were inoculated into fresh monolayers of Vero-E6 cells and H292 cells; 12 days after infection, a cytopathic effect, with cell rounding but no syncytia formation, became evident. Virus antigen was detected by immunofluorescence in both cell lines by using patient's convalescent-phase serum, collected 50 days after symptom onset (Figure 3, panel B). Moreover, transmission electron microscopy used to examine virus morphology showed pleomorphic virions, consistent with those of paramyxoviruses (Figure 3, panel C).

#### Development of New Diagnostic Assays

Because the patient seemed to have acquired the infection during her African research expedition, where she had had extensive contact with rodents and bats, other persons who also come in contact with bats or rodents, such as field biologists, local residents, or ecotourists, might be at risk

for infection. This potential public health threat prompted us to develop diagnostic assays for the rapid detection of Sosuga virus.

First, we developed a TaqMan real-time RT-PCR selective for the *N* gene and tested it on all available serum and blood samples from the patient. This test showed that the patient's viremia peaked early in the course of the infection (cycle threshold 29.5 on day 3 after symptom onset), coinciding with the period of high fever and diverse irregularities in blood parameters (Table). By day 9, the viremia had decreased (cycle threshold 36.3); viremia was undetectable 11 days after symptom onset.

Second, we developed a new ELISA specific for Sosuga virus by using the virus recombinant nucleocapsid protein produced and purified from *Escherichia coli*. This assay was tested on all available serum samples from the patient (Table). Although IgG and IgM were not detectable on day

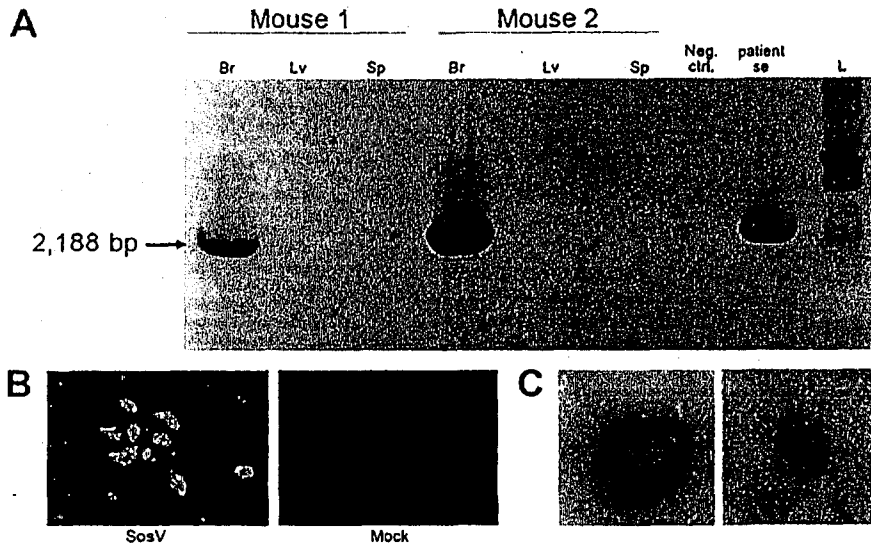


Figure 3. A) Virus isolation confirmed by reverse transcription PCR. SosV was isolated after intracranial and intraperitoneal inoculation into 2-day-old suckling mice. A specific reverse transcription PCR designed to amplify 2,188 bp of the SosV genome was performed by using RNA from brains (Br), liver (Lv), and spleen (Sp) of the euthanized animals. Viral RNA was found only in the brain, not in liver or spleen. B) Propagation of SosV in cell culture. Homogenized tissues (brain, liver, and spleen) were used to infect H292 cells. Fixed monolayers were stained with convalescent-phase serum from the patient and anti-human AlexaFluor 488 antibody (Invitrogen, Grand Island, NY, USA). C) SosV particle. Virus morphologic appearance was examined by taking supernatants from infected Vero-E6 cells, clarifying by slow-speed centrifugation, and depositing on grids for negative staining and examination by transmission electron microscopy. Pleomorphic virions can be observed. Neg. ctrl, negative control; Se, serum; SosV, Sosuga virus; L, molecular mass ladder.

3 after symptom onset (titers <50), seroconversion (IgG and IgM titers  $\geq 1,600$ ) occurred 11 days after symptom onset. As expected, IgM levels later decreased (titer  $\geq 400$ ), and IgG levels remained high 50 days after symptom onset.

In addition, the new ELISA was tested for potential cross-reactivity with some common paramyxoviruses, including mumps and measles viruses. No cross-reactivity was detected on the ELISA plates when control serum from patients with high levels of IgG against mumps and measles viruses was used, a desired feature in a new diagnostic assay because most persons have IgG to these viruses as a result of vaccination or natural infection.

#### Conclusions

A severe disease affected a wildlife biologist shortly after her return from rural Africa to the United States. Because of the disease characteristics (high fever and blood abnormalities) and travel history, a viral hemorrhagic fever was suspected, and clinical samples were rushed to CDC

for investigation of a possible high-risk virus. After molecular and serologic diagnostic assays ruled out several well-known human pathogens (e.g., filoviruses, arenaviruses, phleboviruses, flaviviruses, and rickettsiae) as the cause of the patient's illness, a next-generation sequence approach was followed to detect a possible new infectious agent.

The combination of next-generation sequencing and metagenomic analysis identified a novel paramyxovirus; the virus genome was completely characterized by use of standard sequencing techniques. The complete virus sequence clearly indicated a relationship with other rubula-like viruses isolated from bats. Moreover, the novel virus was isolated from acute-phase serum samples by infecting suckling mice and propagating the virus in cell culture.

The specific molecular and serologic diagnostic assays that we developed will facilitate rapid identification of this novel infectious agent should new cases occur. We used these assays to retrospectively investigate all available

#### RESEARCH

clinical samples from the patient, and the results revealed periods of viremia and seroconversion.

Although the exact source of the patient's infection remains unknown, the sequence similarity with bat-derived rubula-like viruses is highly suggestive. In recent years, a large number of diverse paramyxoviruses have been detected in bats (2,10), but only Nipah and Hendra viruses (genus *Henipavirus*) are known to cause severe disease in humans (11). An investigation to detect Sosuga virus in African bats is currently under way.

#### Acknowledgments

We thank the Arbovirus Diagnostic Laboratory and Rickettsial Zoonoses Branch Reference Diagnostic Laboratory, CDC, for rule-out testing. We also thank Kathryn Roberts, Kim Dodd, Brock Martin, and JoAnn Coleman for their assistance with animal procedures and husbandry and Tatyana Klimova for her assistance during the editing process.

Dr Albariño is a senior research fellow at CDC in Atlanta, Georgia. His research is focused on different aspects of RNA viruses with the goal of developing new diagnostic techniques and evaluating potential vaccines.

#### References

- Lamb RA, Parks GD. Paramyxoviridae: the viruses and their replication. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields virology*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott, Williams and Wilkins; 2007. p. 1449–96.
- Drexler JF, Corman VM, Muller MA, Maganga GD, Vallo P, Binger T, et al. Bats host major mammalian paramyxoviruses. *Nat Commun*. 2012;3:796. doi: 10.1038/ncomms1796
- Baker KS, Todd S, Marsh GA, Cramer G, Barr J, Kamins AO, et al. Novel, potentially zoonotic paramyxoviruses from the African straw-colored fruit bat *Eidolon helvum*. *J Virol*. 2013;87:1348–58. http://dx.doi.org/10.1128/JVI.01202-12
- Lau SK, Woo PC, Wong BH, Wong AY, Tsoi HW, Wang M, et al. Identification and complete genome analysis of three novel paramyxoviruses, Tuhoko virus 1, 2 and 3, in fruit bats from China. *Virology*. 2010;404:106–16. http://dx.doi.org/10.1016/j.virol.2010.03.049
- McMullan LK, Folk SM, Kelly AJ, MacNeil A, Goldsmith CS, Metcalfe MG, et al. A new phlebovirus associated with severe febrile illness in Missouri. *N Engl J Med*. 2012;367:834–41. http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1203378
- McMullan LK, Frace M, Sammons SA, Shoemaker T, Balinandi S, Wamala JF, et al. Using next generation sequencing to identify yellow fever virus in Uganda. *Virology*. 2012;422:1–5. http://dx.doi.org/10.1016/j.virol.2011.08.024
- Palacios G, Quan PL, Jabado OJ, Conlan S, Hirschberg DL, Liu Y, et al. Panmicrobial oligonucleotide array for diagnosis of infectious diseases. *Emerg Infect Dis*. 2007;13:73–81. http://dx.doi.org/10.3201/eid1301.060837
- Huson DH, Auch AF, Qi J, Schuster SC. MEGAN analysis of metagenomic data. *Genome Res*. 2007;17:377–86. http://dx.doi.org/10.1101/gr.5969107
- Bergeron E, Chakrabarti AK, Bird BH, Dodd KA, McMullan LK, Spiropoulos CF, et al. Reverse genetics recovery of Lujo virus and role of virus RNA secondary structures in efficient virus growth. *J Virol*. 2012;86:10759–65. http://dx.doi.org/10.1128/JVI.01144-12
- Baker KS, Todd S, Marsh G, Fernandez-Loras A, Suu-Ire R, Wood JL, et al. Co-circulation of diverse paramyxoviruses in an urban African fruit bat population. *J Gen Virol*. 2012;93:850–6. http://dx.doi.org/10.1099/vir.0.039339-0
- Eaton BT, Mackenzie JS, Wang L. *Henipaviruses*. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields virology*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott, Williams and Wilkins; 2007. p. 1587–600

Address for correspondence: Ute Stroher, Centers for Disease Control and Prevention, 1600 Clifton Rd NE, Mailstop A26, Atlanta, GA 30333, USA; email: icy8@cdc.gov

## EMERGING INFECTIOUS DISEASES®

Please discontinue my print subscription.

Help us do more by reducing our printing costs. Read or download the journal online.

Return:  
Fax: 404 639-1954

Number on mailing label: (required) \_\_\_\_\_

or mail to:

Name: \_\_\_\_\_

EID Editor  
CDC/NCID/MS D61  
1600 Clifton Rd, NE  
Atlanta, GA 30333

Full mailing address: (BLOCK LETTERS) \_\_\_\_\_

or email request to:  
eidedit@cdc.gov

Full text free online at [www.cdc.gov/eid](http://www.cdc.gov/eid)



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 2013. 11. 1	新医薬品等の区分 該当なし	総合機構処理欄
一般的名称	新鮮凍結人血漿	研究報告の公表状況	Ge XY, Li JL, Yang XL, Chmura AA, Zhu C, Epstein JH, Mazet JK, Hu B, Zhang W, Peng C, Zhang YJ, Luo CM, Tan B, Wang N, Zhu Y, Cramer G, Zhang SY, Wang LF, Daszak P, Shi ZL. <i>Nature</i> . 2013 Nov 28;503(7477):535-8. doi: 10.1038/nature12711. Epub 2013 Oct 30.	公表国 中国	
販売名(企業名)	新鮮凍結血漿-LR「日赤」120(日本赤十字社) 新鮮凍結血漿-LR「日赤」240(日本赤十字社) 新鮮凍結血漿-LR「日赤」480(日本赤十字社)				
研究報告の概要	<p>○アンジオテンシン変換酵素II(ACE2)受容体を用いるコウモリSARS様コロナウイルス(SL-CoV)の分離と特徴</p> <p>重症呼吸器症候群(SARS)CoVや中東呼吸器症候群(MERS)CoVは、コウモリが自然宿主である可能性が示されているが、コウモリからのSARS-CoV前駆ウイルスの分離は成功していない。近年、様々なSL-CoVが報告されているが、いずれも系統学的不一致及びSARS-CoV受容体分子であるヒトのACE2をスパイクタンパク質として用いることが出来ないことから、SARS-CoVの直接の前駆ウイルスとは考えられていない。</p> <p>今回、中国雲南省のキクガシラコウモリから分離された2種類の新規コウモリCoV(RsSHC014, Rs3367)は、特にスパイクタンパク質の受容体結合ドメインにおいて、既知のコウモリCoVと比較しSARS-CoVとの近縁性が遙かに高いことが示された。さらに、コウモリの糞便サンプルから、典型的なCoV形態態及びRs3367と99.9%の配列同一性を持ち、ヒト、ジャコウネコ、中国のキクガシラコウモリのACE2を細胞侵入のために用いることができる、SL-CoV(コウモリSL-CoV-WIV1)を分離することに初めて成功した。in vitroの予備実験の結果、WIV1は広い種指向性を持つことも示された。これらの結果は、中国のキクガシラコウモリがSARS-CoVの保有宿主であり、一部のコウモリSL-CoVのヒト感染には中間宿主が必要ではないことを示す、これまでで最も強い証拠である。</p>				<p>使用上の注意記載状況・その他参考事項等</p> <p>新鮮凍結血漿-LR「日赤」120 新鮮凍結血漿-LR「日赤」240 新鮮凍結血漿-LR「日赤」480</p> <p>血液を介するウイルス、細菌、原虫等の感染 vCJD等の伝播のリスク</p>
報告企業の意見	今後の対応				
中国のキクガシラコウモリの糞便から、細胞侵入のためにACE2を用いるSL-CoVを分離することに初めて成功したとの報告である。	今後引き続き情報の収集に努める。				

MedDRA/J Ver.16.1J

LETTER

Isolation and characterization of a bat SARS-like coronavirus that uses the ACE2 receptor

Xing-Yi Ge<sup>1,4</sup>, Jia-Lu Liu<sup>1,4</sup>, Xing-Lou Yang<sup>1,4</sup>, Aleksei A. Chmura<sup>2</sup>, Guanghan Zhu<sup>3</sup>, Jonathan H. Epstein<sup>3</sup>, Jonna K. Mazet<sup>3</sup>, Ben Hu<sup>1</sup>, Wei Zhang<sup>1</sup>, Cheng Peng<sup>1</sup>, Yu-Ji Zhang<sup>1</sup>, Chu-Ming Luo<sup>1</sup>, Bing Tan<sup>1</sup>, Ning Wang<sup>1</sup>, Yan Zhu<sup>1</sup>, Gary Cramer<sup>1</sup>, Shu-Yi Zhang<sup>5</sup>, Lin-Fa Wang<sup>1,6</sup>, Peter Daszak<sup>7</sup> & Zheng-Li Shi<sup>1</sup>

The 2002-3 pandemic caused by severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) was one of the most significant public health events in recent history<sup>1</sup>. An ongoing outbreak of Middle East respiratory syndrome coronavirus<sup>2</sup> suggests that this group of viruses remains a key threat and that their distribution is wider than previously recognized. Although bats have been suggested to be the natural reservoirs of both viruses<sup>3,4</sup>, attempts to isolate the progenitor virus of SARS-CoV from bats have been unsuccessful. Diverse SARS-like coronaviruses (SL-CoVs) have now been reported from bats in China, Europe and Africa<sup>5-8</sup>, but none is considered a direct progenitor of SARS-CoV because of their phylogenetic disparity from this virus and the inability of their spike proteins to use the SARS-CoV cellular receptor molecule, the human angiotensin converting enzyme II (ACE2)<sup>9,10</sup>. Here we report whole-genome sequences of two novel bat coronaviruses from Chinese horseshoe bats (family: Rhinolophidae) in Yunnan, China: RsSHC014 and Rs3367. These viruses are far more closely related to SARS-CoV than any previously identified bat coronaviruses, particularly in the receptor binding domain of the spike protein. Most importantly, we report the first recorded isolation of a live SL-CoV (bat SL-CoV-WIV1) from bat faecal samples in Vero E6 cells, which has typical coronavirus morphology: 99.9% sequence identity to Rs3367 and uses ACE2 from humans, civets and Chinese horseshoe bats for cell entry. Preliminary *in vitro* testing indicates that WIV1 also has broad species tropism. Our results provide the strongest evidence to date that Chinese horseshoe bats are natural reservoirs of SARS-CoV, and that intermediate hosts may not be necessary for direct human infection by some bat SL-CoVs. They also highlight the importance of pathogen-discovery programs targeting high-risk wildlife groups in emerging disease hotspots as a strategy for pandemic preparedness.

The 2002-3 pandemic of SARS<sup>1</sup> and the ongoing emergence of the Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV)<sup>2</sup> demonstrate that CoVs are a significant public health threat. SARS-CoV was shown to use the human ACE2 molecule as its entry receptor, and this is considered a hallmark of its cross-species transmissibility<sup>3</sup>. The receptor binding domain (RBD) located in the amino-terminal region (amino acids 318-510) of the SARS-CoV spike (S) protein is directly involved in binding to ACE2 (ref. 12). However, despite phylogenetic evidence that SARS-CoV evolved from bat SL-CoVs, all previously identified SL-CoVs have major sequence differences from SARS-CoV in the RBD of their S proteins, including one or two deletions<sup>4,5</sup>. Replacing the RBD of one SL-CoV protein with SARS-CoV S conferred the ability to use human ACE2 and replicate efficiently in mice<sup>6</sup>. However, to date, no SL-CoVs have been isolated from bats, and no wild-type SL-CoV of bat origin has been shown to use ACE2.

We conducted a 12-month longitudinal survey (April 2011-September 2012) of SL-CoVs in a colony of *Rhinolophus sinicus* at a single location in Kunming, Yunnan Province, China (Extended Data Table 1). A total of 117 anal swabs or faecal samples were collected from individual bats using a previously published method<sup>7,8</sup>. A one-step reverse transcription (RT)-nested PCR was conducted to amplify the RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) motifs A and C, which are conserved among alphacoronaviruses and betacoronaviruses<sup>9</sup>.

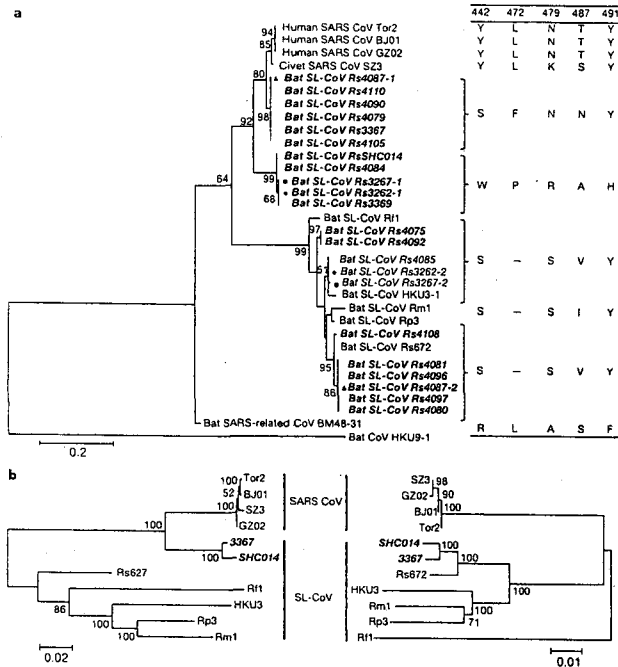
Twenty-seven of the 117 samples (23%) were classed as positive by PCR and subsequently confirmed by sequencing. The species origin of all positive samples was confirmed to be *R. sinicus* by cytochrome b sequence analysis, as described previously<sup>9,10</sup>. A higher prevalence was observed in samples collected in October (50% in 2011 and 48.7% in 2012) than those in April (7.1% in 2011) or May (7.4% in 2012) (Extended Data Table 1). Analysis of the S protein RBD sequences indicated the presence of seven different strains of SL-CoVs (Fig. 1a and Extended Data Figs 1 and 2). In addition to RBD sequences which closely matched previously described SL-CoVs (Rs672, Rf1 and HK03)<sup>5,10,11</sup>, two novel strains (designated SL-CoV RsSHC014 and Rs3367) were discovered. Their full-length genome sequences were determined, and both were found to be 29,787 base pairs in size (excluding the poly(A) tail). The overall nucleotide sequence identity of these two genomes with human SARS-CoV (T22 strain) is 95%, higher than that observed previously for bat SL-CoVs in China (88-92%)<sup>5,10,11</sup> or Europe (76%)<sup>12</sup> (Extended Data Table 2 and Extended Data Figs 3 and 4). Higher sequence identities were observed at the protein level between these new SL-CoVs and SARS-CoVs (Extended Data Tables 3 and 4). To understand the evolutionary origin of these two novel SL-CoV strains, we conducted a recombination analysis with the Recombination Detection Program 4.0 package<sup>13</sup> using available genome sequences of bat SL-CoV strains (Rf1, Rp3, Rs672, Rn1, HK03 and BM48-31) and human and civet representative SARS-CoV strains (Bj01, SZ23, Tor2 and GZ02). Three breakpoints were detected with strong P values (<10<sup>-6</sup>) and supported by similarity plot and bootscan analysis (Extended Data Fig. 5a, b). Breakpoints were located at nucleotides 20,827, 26,551 and 28,685 in the Rs3367 (and RsSHC014) genome, and generated recombination fragments covering nucleotides 20,827-26,533 (5,727 nucleotides) (including partial open reading frame (ORF) 1b, full-length S, ORF3, E and partial M gene) and nucleotides 26,534-28,685 (2,133 nucleotides) (including partial ORF M, full-length ORF6, ORF7, ORF8 and partial N gene). Phylogenetic analysis using the major and minor parental regions suggested that Rs3367, or RsSHC014, is the descendant of a recombination of lineages that ultimately lead to SARS-CoV and SL-CoV Rs672 (Fig. 1b).

The most notable sequence difference between these two new SL-CoVs and previously identified SL-CoVs is in the RBD regions of their S proteins: first, they have higher amino acid sequence identity to SARS-CoV (85% and 96% for RsSHC014 and Rs3367, respectively). Second, there are no deletions and they have perfect sequence alignment with the SARS-CoV RBD region (Extended Data Figs 1 and 2). Structural

JRC20137-042

doi:10.1038/nature12711

<sup>1</sup>Center for Emerging Infectious Diseases, State Key Laboratory of Virology, Wuhan Institute of Virology of the Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430071, China; <sup>2</sup>Ecopathology Institute, Newark, New York, 14617, USA; <sup>3</sup>One Health Institute, School of Veterinary Medicine, University of California, Davis, California 95616, USA; <sup>4</sup>CSIRO Australian Animal Health Laboratory, Geelong, Victoria 3220, Australia; <sup>5</sup>College of Life Sciences, East China Normal University, Shanghai 200062, China; <sup>6</sup>Emerging Infectious Diseases Program, Duke-NUS Graduate Medical School, Singapore 169857; <sup>7</sup>These authors contributed equally to this work.



**Figure 1** | Phylogenetic tree based on amino acid sequences of the S RBD region and the two parental regions of bat SL-CoV Rs3367 or RsSHC014. a, SARS-CoV S protein amino acid residues 310–520 were aligned with homologous regions of bat SL-CoVs using the ClustalW software. A maximum-likelihood phylogenetic tree was constructed using a Poisson model with bootstrap values determined by 1,000 replicates in the MEGA5 software package. The RBD sequences identified in this study are in bold and named by the sample numbers. The key amino acid residues involved in interacting with the human ACE2 molecule are indicated on the right of the tree. SARS-CoV GZ02, BJ01 and Tor2 were isolated from patients in the early, middle and late phase, respectively, of the SARS outbreak in 2003. SARS-CoV SZ3 was identified from *Papuma larvata* in 2003 collected in Guangdong, China. SL-CoV Rp3, Rs672 and HKU3-1 were identified from *R. sinicus* collected in China (respectively: Guangxi, 2004; Guizhou, 2006; Hong Kong, 2005). Rf1 and Rm1 were identified from

*R. ferrumequinum* and *R. macrotis*, respectively, collected in Hubei, China, in 2004. Bat SARS-related CoV BM48-31 was identified from *R. blasii* collected in Bulgaria in 2008. Bat CoV HKU9-1 was identified from *Rousettus leschenaultii* collected in Guangdong, China in 2005/2006 and used as an outgroup. All sequences in bold and italics were identified in the current study. Filled triangles, circles and diamonds indicate samples with co-infection by two different SL-CoVs. “-” indicates the amino acid deletion. b, Phylogenetic origins of the two parental regions of Rs3367 or RsSHC014. Maximum likelihood phylogenetic trees were constructed from alignments of two fragments covering nucleotides 20,827–26,533 (5,727 nucleotides) and 26,534–28,685 (2,133 nucleotides) of the Rs3367 genome, respectively. For display purposes, the trees were midpoint rooted. The taxa were annotated according to strain names: SARS-CoV, SARS coronavirus; SARS-like CoV, bat SARS-like coronavirus. The two novel SL-CoVs, Rs3367 and RsSHC014, are in bold and italics.

and mutagenesis studies have previously identified five key residues (amino acids 442, 472, 479, 487 and 491) in the RBD of the SARS-CoV S protein that have a pivotal role in receptor binding<sup>20,21</sup>. Although all five residues in the RsSHC014 S protein were found to be different from those of SARS-CoV, two of the five residues in the Rs3367 RBD were conserved (Fig. 1 and Extended Data Fig. 1).

Despite the rapid accumulation of bat CoV sequences in the last decade, there has been no report of successful virus isolation<sup>6,22,23</sup>. We attempted isolation from SL-CoV PCR-positive samples. Using an optimized protocol and Vero E6 cells, we obtained one isolate which caused cytopathic effect during the second blind passage. Purified virions displayed typical coronavirus morphology under electron microscopy (Fig. 2). Sequence analysis using a sequence-independent amplification method<sup>11</sup> to avoid PCR-introduced contamination indicated that the isolate was almost identical to Rs3367, with 99.9% nucleotide genome sequence identity and 100% amino acid sequence identity for the S1 region. The new isolate was named SL-CoV-WIV1.

To determine whether WIV1 can use ACE2 as a cellular entry receptor, we conducted virus infectivity studies using HeLa cells expressing or not expressing ACE2 from humans, civets or Chinese horseshoe bats. We found that WIV1 is able to use ACE2 of different origins as an entry receptor and replicated efficiently in the ACE2-expressing cells (Fig. 3). This is, to our knowledge, the first identification of a wild-type bat SL-CoV capable of using ACE2 as an entry receptor.

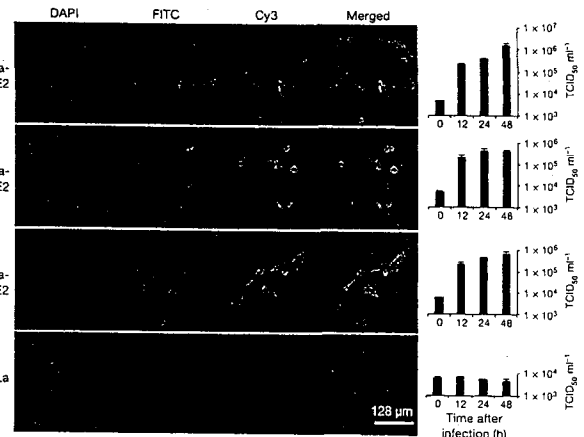
To assess its cross-species transmission potential, we conducted infectivity assays in cell lines from a range of species. Our results (Fig. 4 and Extended Data Table 5) indicate that bat SL-CoV-WIV1 can grow in human alveolar basal epithelial (A549), pig kidney 15 (PK-15) and *Rhinolophus sinicus* kidney (RSKT) cell lines, but not in human cervix (HeLa), Syrian golden hamster kidney (BHK21), *Myotis davidii* kidney (BK), *Myotis chinensis* kidney (MCKT), *Rousettus leschenaultii* kidney (RLK) or *Pteropus alecto* kidney (PaKi) cell lines. Real-time RT-PCR indicated that WIV1 replicated much less efficiently in A549, PK-15 and RSKT cells than in Vero E6 cells (Fig. 4).



**Figure 2** | Electron micrograph of purified virions. Virions from a 10-ml culture were collected, fixed and concentrated/purified by sucrose gradient centrifugation. The pelleted viral particles were suspended in 100 µl PBS, stained with 2% phosphotungstic acid (pH 7.0) and examined directly using a Tecnai transmission electron microscope (FEI) at 200 kV.

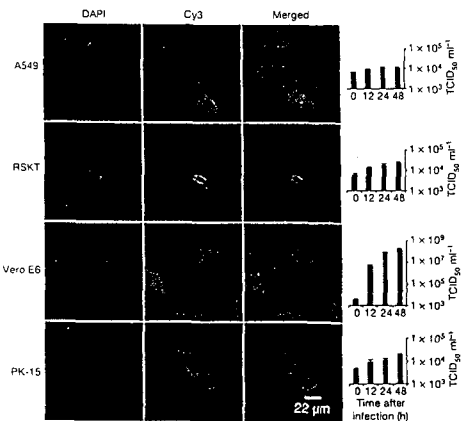
To assess the cross-neutralization activity of human SARS-CoV sera against WIV1, we conducted serum-neutralization assays using nine convalescent sera from SARS patients collected in 2003. The results showed that seven of these were able to completely neutralize 100 tissue

culture infectious dose 50 (TCID<sub>50</sub>) WIV1 at dilutions of 1:10 to 1:40, further confirming the close relationship between WIV1 and SARS-CoV. Our findings have important implications for public health. First, they provide the clearest evidence yet that SARS-CoV originated in bats. Our previous work provided phylogenetic evidence of this<sup>4</sup>, but the lack of an isolate or evidence that bat SL-CoVs can naturally infect human cells, until now, had cast doubt on this hypothesis. Second, the lack of capacity of SL-CoVs to use of ACE2 receptors has previously been considered as the key barrier for their direct spillover into humans, supporting the suggestion that civets were intermediate hosts for SARS-CoV adaptation to human transmission during the SARS outbreak<sup>24</sup>. However, the ability of SL-CoV-WIV1 to use human ACE2 argues against the necessity of this step for SL-CoV-WIV1 and suggests that direct bat-to-human infection is a plausible scenario for some bat SL-CoVs. This has implications for public health control measures in the face of potential spillover of a diverse and growing pool of recently discovered SARS-like CoVs with a wide geographic distribution. Our findings suggest that the diversity of bat CoVs is substantially higher than that previously reported. In this study we were able to demonstrate the circulation of at least seven different strains of SL-CoVs within a single colony of *R. sinicus* during a 12-month period. The high genetic diversity of SL-CoVs within this colony was mirrored by high phenotypic diversity in the differential use of ACE2 by different strains. It would therefore not be surprising if further surveillance reveals a broad diversity of bat SL-CoVs that are able to use ACE2, some of which may have even closer homology to SARS-CoV than SL-CoV-WIV1. Our results—in addition to the recent demonstration of MERS-CoV in a Saudi Arabian bat<sup>25</sup>, and of bat CoVs closely related to MERS-CoV in China, Africa, Europe and North America<sup>26,27</sup>—suggest that bat coronaviruses remain a substantial global threat to public health. Finally, this study demonstrates the public health importance of pathogen discovery programs targeting wildlife that aim to identify the ‘known unknowns’—previously unknown viral strains closely related to known pathogens. These programs, focused on specific high-risk wildlife groups and hotspots of disease emergence, may be a critical part of future global strategies to predict, prepare for, and prevent pandemic emergence<sup>28</sup>.



**Figure 3** | Analysis of receptor usage of SL-CoV-WIV1 determined by immunofluorescence assay and real-time PCR. Determination of virus infectivity in HeLa cells with and without the expression of ACE2. b, bat; c, civet; h, human. ACE2 expression was detected with goat anti-humanACE2 antibody followed by fluorescein isothiocyanate (FITC)-conjugated donkey anti-goat IgG. Virus replication was detected with rabbit antibody against the

SL-CoV Rp3 nucleocapsid protein followed by cyanine 3 (Cy3)-conjugated mouse anti-rabbit IgG. Nuclei were stained with DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole). The columns (from left to right) show staining of nuclei (blue), ACE2 expression (green), virus replication (red), merged triple-stained images and real-time PCR results, respectively. (n = 3); error bars represent standard deviation.



**Figure 4** | Analysis of host range of SL-CoV-WIV1 determined by immunofluorescence assay and real-time PCR. Virus infection in A549, RSK1, Vero E6 and PK-15 cells. Virus replication was detected as described for Fig. 3. The columns (from left to right) show staining of nuclei (blue), virus replication (red), merged double-stained images and real-time PCR results, respectively.  $n = 3$ ; error bars represent s.d.

## METHODS SUMMARY

Throat and faecal swabs or fresh faecal samples were collected in viral transport medium as described previously<sup>14</sup>. All PCR was conducted with the One-Step RT-PCR kit (Invitrogen). Primers targeting the highly conserved regions of the RdRp gene were used for detection of all alphacoronaviruses and betacoronaviruses as described previously<sup>15</sup>. Degenerate primers were designed on the basis of all available genomic sequences of SARS-CoVs and SL-CoVs and used for amplification of the RBD sequences of S genes or full-length genomic sequences. Degenerate primers were used for amplification of the bat ACE2 gene as described previously<sup>16</sup>. PCR products were gel purified and cloned into pGEM-T Easy Vector (Promega). At least four independent clones were sequenced to obtain a consensus sequence. PCR-positive faecal samples (in 200 µl buffer) were gradient centrifuged at 3,000–12,000g and supernatant diluted at 1:10 in DMEM before being added to Vero E6 cells. After incubation at 37 °C for 1 h, inocula were removed and replaced with fresh DMEM with 2% FCS. Cells were incubated at 37 °C and checked daily for cytopathic effect. Cell lines from different origins were grown on coverslips in 24-well plates and inoculated with the novel SL-CoV at a multiplicity of infection of 10. Virus replication was detected at 24 h after infection using rabbit antibodies against the SL-CoV Rn3 nucleocapsid protein followed by Cy3-conjugated goat anti-rabbit IgG.

**Online Content** Any additional Methods, Extended Data display items and Source Data are available in the online version of the paper; references unique to these sections appear only in the online paper.

Received 16 May; accepted 18 September 2013.

Published online 30 October 2013.

- Ksiazek, T. G. et al. A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *N. Engl. J. Med.* **348**, 1953–1966 (2003).
- Zaki, A. M., van Boheemen, S., Bastiaens, T. M., Osterhaus, A. D. & Fouchier, R. A. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *N. Engl. J. Med.* **367**, 1814–1820 (2012).
- Anthony, S. J. et al. Coronaviruses in bats from Mexico. *J. Gen. Virol.* **94**, 1028–1038 (2013).
- Raj, V. S. et al. Dipeptidyl peptidase 4 is a functional receptor for the emerging human coronavirus-EMC. *Nature* **495**, 251–254 (2013).
- Li, W. et al. Bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses. *Science* **310**, 676–679 (2005).
- Drexler, J. F. et al. Genomic characterization of severe acute respiratory syndrome-related coronavirus in European bats and classification of coronaviruses based on partial RNA-dependent RNA polymerase gene sequences. *J. Virol.* **84**, 11336–11349 (2010).
- Tong, S. et al. Detection of novel SARS-like and other coronaviruses in bats from Kenya. *Emerg. Infect. Dis.* **15**, 482–485 (2009).
- Lau, S. K. P. et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus-like virus in Chinese horseshoe bats. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **102**, 14040–14045 (2005).

- Ren, W. et al. Difference in receptor usage between severe acute respiratory syndrome (SARS) coronavirus and SARS-like coronavirus of bat origin. *J. Virol.* **82**, 1899–1907 (2008).
- Hon, C. C. et al. Evidence of the recombinant origin of a bat severe acute respiratory syndrome (SARS)-like coronavirus and its implications on the direct ancestor of SARS coronavirus. *J. Virol.* **82**, 1819–1826 (2008).
- Li, W. et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature* **426**, 450–454 (2003).
- Wong, S. K. L., Moore, M. J., Choe, H. & Farzan, M. A 193-amino acid fragment of the SARS coronavirus S protein efficiently binds angiotensin-converting enzyme 2. *J. Biol. Chem.* **279**, 3197–3201 (2004).
- Baskler, M. M. et al. Synthetic recombinant bat SARS-like coronavirus is infectious in cultured cells and in mice. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **105**, 19944–19949 (2008).
- Li, Y. et al. Host range, prevalence, and genetic diversity of adenoviruses in bats. *J. Virol.* **84**, 3889–3897 (2010).
- De Souza Luna, L. K. et al. Generic detection of coronaviruses and differentiation at the prototype strain level by reverse transcription-PCR and nonfluorescent low-density microarray. *J. Clin. Microbiol.* **45**, 1049–1052 (2007).
- Cui, J. et al. Evolutionary relationships between bat coronaviruses and their hosts. *Emerg. Infect. Dis.* **13**, 1526–1532 (2007).
- Yuan, J. et al. Intraspecific diversity of SARS-like coronaviruses in *Rhinolophus sinicus* and its implications for the origin of SARS coronavirus in humans. *J. Gen. Virol.* **91**, 1058–1062 (2010).
- Ren, W. et al. Full-length genome sequences of two SARS-like coronaviruses in horseshoe bats and genetic variation analysis. *J. Gen. Virol.* **87**, 3355–3359 (2006).
- Martin, D. P. et al. RDP3: a flexible and fast computer program for analyzing recombination. *Bioinformatics* **26**, 2462–2463 (2010).
- Wu, K., Peng, G., Wilken, M., Geraghty, R. J. & L. F. Mechanisms of host receptor adaptation by severe acute respiratory syndrome coronavirus. *J. Biol. Chem.* **287**, 8904–8911 (2012).
- Li, W. et al. Receptor and viral determinants of SARS-coronavirus adaptation to human ACE2. *EMBO J.* **24**, 1634–1643 (2005).
- Lau, S. K. et al. Ecological epidemiology and complete genome comparison of different strains of severe acute respiratory syndrome-related *Rhinolophus bat coronavirus* in China reveal bats as a reservoir for acute, self-limiting infection that allows recombination events. *J. Virol.* **84**, 2809–2819 (2010).
- Lau, S. K. et al. Coexistence of different genotypes in the same bat and serological characterization of *Rousettus bat coronavirus HKU9* belonging to a novel Betacoronavirus subgroup. *J. Virol.* **84**, 11385–11394 (2010).
- Song, H. D. et al. Cross-host evolution of severe acute respiratory syndrome coronavirus in palm civet and human. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **102**, 2430–2435 (2005).
- Memish, Z. A. et al. Middle East respiratory syndrome coronavirus in bats, Saudi Arabia. *Emerg. Infect. Dis.* **19**, 111 (2013).
- Chan, J. F. et al. Is the discovery of the novel human betacoronavirus 2c EMC/2012 (hCoV-EMC) the beginning of another SARS-like pandemic? *J. Infect. Dis.* **205**, 477–489 (2012).
- Itihete, N. L. et al. Close relative of human Middle East respiratory syndrome coronavirus in bat, South Africa. *Emerg. Infect. Dis.* **19**, 1697–1699 (2013).
- Morse, S. S. et al. Prediction and prevention of the next pandemic zoonosis. *Lancet* **380**, 1956–1965 (2012).
- Hou, Y. et al. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) proteins of different bat species confer variable susceptibility to SARS-CoV entry. *Arch. Virol.* **155**, 1563–1569 (2010).

**Acknowledgements** We acknowledge financial support from the State Key Program for Basic Research (2011CB504701 and 2010CB530100), National Natural Science Foundation of China (81290341 and 81321001), Scientific and technological basis special project (2013FY113500), CSIRO OCE Science Leaders Award, National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID) award number R01AI079231, a National Institutes of Health (NIH)/National Science Foundation (NSF) 'Ecology and Evolution of Infectious Diseases' award from the NIH Fogarty International Center (R01TW005869), an award from the NIH Fogarty International Center supported by International Influenza Funds from the Office of the Secretary of the Department of Health and Human Services (R56TW009502), and the United States Agency for International Development (USAID) Emerging Pandemic Threats PREDICT. The contents are the responsibility of the authors and do not necessarily reflect the views of NIAID, NIH, NSF, USAID or the United States Government. We thank X. Che from Zhujiang Hospital, Southern Medical University, for providing human SARS patient sera.

**Author Contributions** Z.-L.S. and P.D. designed and coordinated the study. X.-Y.G., J.-L.L. and X.-L.Y. conducted majority of experiments and contributed equally to the study. A.A.C., B.H., W.Z., C.P., Y.-J.Z., C.-M.L., B.T., N.W. and Y.Z. conducted part of the experiments and analyses. J.K.M., J.K.M. and S.-Y.Z. conducted the field study. X.-Y.G., J.-L.L., X.-L.Y., B.T. and G.-J.Z. collected the samples. G.C. and L.-F.W. designed and supervised part of the experiments. All authors contributed to the interpretations and conclusions presented. Z.-L.S. and X.-Y.G. wrote the manuscript with significant contributions from P.D. and L.-F.W. and input from all authors.

**Author Information** Sequences of three bat SL-CoV genomes, bat SL-CoV RBD and *R. sinicus* ACE2 genes have been deposited in GenBank under accession numbers KC881005–KC881007 (genomes from SL-CoV RnSHC014, Rn3367 and WIV1, respectively), KC880984–KC881003 (bat SL-CoV RBD genes) and KC881004 (R. sinicus ACE2), respectively. Reprints and permissions information is available at [www.nature.com/reprints](http://www.nature.com/reprints). The authors declare no competing financial interests. Readers are welcome to comment on the online version of the paper. Correspondence and requests for materials should be addressed to P.D. ([daszak@cohealthalliance.org](mailto:daszak@cohealthalliance.org)) or Z.-L.S. ([zls@whi.gov.cn](mailto:zls@whi.gov.cn)).

## METHODS

**Sampling.** Bats were trapped in their natural habitat as described previously<sup>14</sup>. Throat and faecal swab samples were collected in viral transport medium (VTM) composed of Hank's balanced salt solution, pH 7.4, containing BSA (1%), amphotericin (15 µg ml<sup>-1</sup>), penicillin G (100 U ml<sup>-1</sup>) and streptomycin (50 µg ml<sup>-1</sup>). To collect fresh faecal samples, clean plastic sheets measuring 2.0 by 20 m were placed under known bat roosting sites at approximately 05:30–06:00 the next morning and placed in VTM. Samples were transported to the laboratory and stored at –80 °C until use. All animals trapped for this study were released back to their habitat after sample collection. All sampling processes were performed by veterinarians with approval from Animal Ethics Committee of the Wuhan Institute of Virology (WIVH05210201) and EcoHealth Alliance under an inter-institutional agreement with University of California, Davis (UC Davis protocol no. 16048). **RNA extraction, PCR and sequencing.** RNA was extracted from 140 µl of swab or faecal samples with a Viral RNA Mini Kit (Qiagen) following the manufacturer's instructions. RNA was eluted in 60 µl RNAse-free buffer (buffer AVE, Qiagen), then aliquoted and stored at –80 °C. One-step RT-PCR (Invitrogen) was used to detect coronavirus sequences as described previously<sup>14</sup>. First round PCR was conducted in a 25-µl reaction mix containing 12.5 µl PCR 2X reaction mix buffer, 10 pmol of each primer, 2.5 mM MgSO<sub>4</sub>, 2.0 U RNase inhibitor, 1 µl SuperScript III/Platinum Taq Enzyme Mix and 5 µl RNA. Amplification of the RdRp gene fragment was performed as follows: 50 °C for 30 min, 94 °C for 2 min, followed by 40 cycles consisting of 94 °C for 15 s, 62 °C for 15 s, 68 °C for 40 s, and a final extension of 68 °C for 5 min. Second round PCR was conducted in a 25-µl reaction mix containing 2.5 µl PCR reaction buffer, 5 pmol of each primer, 50 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.5 mM dNTP, 0.1 µl Platinum Taq Enzyme (Invitrogen) and 1 µl first round PCR product. The amplification of RdRp gene fragment was performed as follows: 94 °C for 5 min followed by 35 cycles consisting of 94 °C for 30 s, 52 °C for 30 s, 72 °C for 40 s, and a final extension of 72 °C for 5 min.

To amplify the RBD region, one-step RT-PCR was performed with primers designed based on available SARS-CoV or bat SL-CoVs (first round PCR primers; F, forward; R, reverse: CoVSP91F-5'-VWGAGDTTGTAKGRTTYCC3'-3' and CoVSI909R-5'-TAARACAVCCWCGYTGWT-3'; second PCR primers: CoVSI91F-5'-TGTKAGRTTYCC2AAAYATTAC-3' and CoVSI1805R-5'-ACATCYTG ATANARAACAGC-3'). First round PCR was conducted in a 25-µl reaction mix as described above except primers specific for the S gene were used. The amplification of the RBD region of the S gene was performed as follows: 50 °C for 30 min, 94 °C for 2 min, followed by 35 cycles consisting of 94 °C for 15 s, 43 °C for 15 s, 68 °C for 90 s, and a final extension of 68 °C for 5 min. Second round PCR was conducted in a 25-µl reaction mix containing 2.5 µl PCR reaction buffer, 5 pmol of each primer, 50 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.5 mM dNTP, 0.1 µl Platinum Taq Enzyme (Invitrogen) and 1 µl first round PCR product. Amplification was performed as follows: 94 °C for 5 min followed by 40 cycles consisting of 94 °C for 30 s, 41 °C for 30 s, 72 °C for 60 s, and a final extension of 72 °C for 5 min.

PCR products were gel purified and cloned into pGEM-T Easy Vector (Promega). At least four independent clones were sequenced to obtain a consensus sequence for each of the amplified regions.

**Sequencing full-length genomes.** Degenerate coronavirus primers were designed based on all available SARS-CoV and bat SL-CoV sequences in GenBank and specific primers were designed from genome sequences generated from previous rounds of sequencing in this study (primer sequences will be provided upon request). All PCRs were conducted using the One-Step RT-PCR kit (Invitrogen). The 5' and 3' genomic ends were determined using the 5' or 3' RACE kit (Roche), respectively. PCR products were gel purified and sequenced directly or following cloning into pGEM-T Easy Vector (Promega). At least four independent clones were sequenced to obtain a consensus sequence for each of the amplified regions and each region was sequenced at least twice.

**Sequence analysis and databank accession numbers.** Routine sequence management and analysis was carried out using DNASTar or Geneious. Sequence alignment and editing was conducted using ClustalW, BioEdit or GeneDoc. Maximum Likelihood phylogenetic trees based on the protein sequences were constructed using a Poisson model with bootstrap values determined by 1,000 replicates in the MEGA5 software package.

Sequences obtained in this study have been deposited in GenBank as follows (accession numbers given in parenthesis): full-length genome sequence of SL-CoV RnSHC014 and Rn3367 (KC881005, KC881006); full-length sequence of WIV1 S (KC881007); RBD (KC880984–KC881003); ACE2 (KC881004). SARS-CoV sequences used in this study: human SARS-CoV strains Tor2 (AY274119), B01 (AY278488), G202 (AY390556) and civet SARS-CoV strain 523 (AY304866). Bat coronavirus sequences used in this study: R672 (FJ588686), Rp3 (DQ071615), Rf1 (DQ412042), Rm1 (DQ412043), HKU3-1 (DQ022305), BM48-31 (NC\_014470), HKU9-1 (NC\_009021), HKU4 (NC\_009019), HKU5 (NC\_009020), HKU8 (DQ249228),

HKU2 (EF203067), BtCoV512 (NC\_009657), 1A (NC\_010437). Other coronavirus sequences used in this study: HCoV-229E (AF304460), HCoV-OC43 (AY391777), HCoV-NL63 (AY867487), HKU1 (NC\_006577), EMC (X869059), FIPV (NC\_002306), PRCoV (DQ811787), BwCoV (NC\_010646), MHV (AY700211), IBV (AY851295). **Amplification, cloning and expression of the bat ACE2 gene.** Construction of expression clones for human and civet ACE2 (pCDNA3.1) has been described previously<sup>16</sup>. Bat ACE2 was amplified from a *R. sinicus* (sample no. 3357). In brief, total RNA was extracted from bat rectal tissue using the RNeasy Mini Kit (Qiagen). First-strand complementary DNA was synthesized from total RNA by reverse transcription with random hexamers. Full-length bat ACE2 fragments were amplified using forward primer bAF2 and reverse primer bAR2 (ref. 29). The ACE2 gene was cloned into pCDNA3.1 with KpnI and XhoI, and verified by sequencing. Purified ACE2 plasmids were transfected to HeLa cells. After 24 h, lysates of HeLa cells expressing human, civet, or bat ACE2 were confirmed by western blot or immunofluorescence assay. **Western blot analysis.** Lysates of cells or filtered supernatants containing pseudoviruses were separated by SDS-PAGE, followed by transfer to a nitrocellulose membrane (Millipore). For detection of S protein, the membrane was incubated with rabbit anti-Rp3 S fragment (amino acids 561–666) polyanibodies (1:200), and the bound antibodies were detected by alkaline phosphatase (AP)-conjugated goat anti-rabbit IgG (1:1,000). For detection of HIV-1 p24 in supernatants, monoclonal antibody against HIV p24 (p24 Mab) was used as the primary antibody at a dilution of 1:1,000, followed by incubation with AP-conjugated goat anti-mouse IgG at the same dilution. To detect the expression of ACE2 in HeLa cells, goat antibody against the human ACE2 ectodomain (1:500) was used as the first antibody, followed by incubation with horseradish peroxidase-conjugated donkey anti-goat IgG (1:1,000). **Virus isolation.** Vero E6 cell monolayers were maintained in DMEM supplemented with 10% FCS. PCR-positive samples (in 200 µl buffer) were gradient centrifuged at 3,000–12,000g, and supernatant were diluted 1:10 in DMEM before being added to Vero E6 cells. After incubation at 37 °C for 1 h, inocula were removed and replaced with fresh DMEM with 2% FCS. Cells were incubated at 37 °C for 3 days and checked daily for cytopathic effect. Double-dose triple antibiotics penicillin/streptomycin/amphotericin (Gibco) were included in all tissue culture media (penicillin 200 IU ml<sup>-1</sup>, streptomycin 0.2 mg ml<sup>-1</sup>, amphotericin 0.5 µg ml<sup>-1</sup>). Three blind passages were carried out for each sample. After each passage, both the culture supernatant and cell pellet were examined for presence of virus by RT-PCR using primers targeting the RdRp or S gene. Virions in supernatant (10 ml) were collected and fixed using 0.1% formaldehyde for 4 h, then concentrated by ultracentrifugation through a 20% sucrose cushion (5 ml) at 80,000g for 90 min using a Ty90 rotor (Beckman). The pelleted viral particles were suspended in 100 µl PBS, stained with 2% phosphotungstic acid (pH 7.0) and examined using a Tecnai transmission electron microscope (FEI) at 200 kV.

**Virus infectivity detected by immunofluorescence assay.** Cell lines used for this study and their culture conditions are summarized in Extended Data Table 5. Virus titre was determined in Vero E6 cells by cytopathic effect (CPE) counts. Cell lines from different origins and HeLa cells expressing ACE2 from human, civet or Chinese horseshoe bat were grown on coverslips in 24-well plates (Corning) incubated with bat SL-CoV-WIV1 at a multiplicity of infection = 10 for 1 h. The inoculum was removed and washed twice with PBS and supplemented with medium. HeLa cells without ACE2 expression and Vero E6 cells were used as negative and positive controls, respectively. At 24 h after infection, cells were washed with PBS and fixed with 4% formaldehyde in PBS (pH 7.4) for 20 min at 4 °C. ACE2 expression was detected using goat anti-human ACE2 immunoglobulin (R&D Systems) followed by FITC-labelled donkey anti-goat immunoglobulin (PTGLab). Virus replication was detected using rabbit antibody against the SL-CoV Rn3 nucleocapsid protein followed by Cy3-conjugated mouse anti-rabbit IgG. Nuclei were stained with DAPI. Staining patterns were examined using a FV1200 confocal microscope (Olympus). **Virus infectivity detected by real-time RT-PCR.** Vero E6, A549, PK15, RSK1 and HeLa cells with or without expression of ACE2 of different origins were inoculated with 0.1 TCID<sub>50</sub> WIV-1 and incubated for 1 h at 37 °C. After removing the inoculum, the cells were cultured with medium containing 1% FBS. Supernatants were collected at 0, 12, 24 and 48 h. RNA from 140 µl of each supernatant was extracted with the Viral RNA Mini Kit (Qiagen) following manufacturer's instructions and eluted in 60 µl buffer AVE (Qiagen). RNA was quantified on the ABI StepOne system, with the TaqMan AgPath-ID One-Step RT-PCR Kit (Applied Biosystems) in a 25 µl reaction mix containing 4 µl RNA, 1 × RT-PCR enzyme mix, 1 × RT-PCR buffer, 40 pmol forward primer (5'-GTGGTGGTGACGGCA AAGT-3'), 40 pmol reverse primer (5'-AAGTGAAGCTTCTGGCCAGC-3') and 12 pmol probe (5'-FAM-AAAGAGCTCAAGCCGACGTG-BHQ1-3'). Amplification parameters were 10 min at 50 °C, 10 min at 95 °C and 50 cycles of 15 s at 95 °C and 20 s at 60 °C. RNA dilutions from purified WIV-1 stock were used as a standard. **Serum neutralization test.** SARS patient sera were inactivated at 56 °C for 30 min and then used for virus neutralization testing. Sera were diluted starting with 1:10

**RESEARCH LETTER**

and then serially twofold diluted in 96-well cell plates to 1:40. Each 100  $\mu$ l serum dilution was mixed with 100  $\mu$ l viral supernatant containing 100 TCID<sub>50</sub> of WIV1 and incubated at 37 °C for 1 h. The mixture was added in triplicate wells of 96-well cell plates with plated monolayers of Vero E6 cells and further incubated at 37 °C for 2 days. Serum from a healthy blood donor was used as a negative control in each experiment. CPE was observed using an inverted microscope 2 days after inoculation. The neutralizing antibody titre was read as the highest dilution of serum which completely suppressed CPE in infected wells. The neutralization test was repeated twice.

**Recombination analysis.** Full-length genomic sequences of SL-CoV Rs3367 or RsSHC014 were aligned with those of selected SARS-CoVs and bat SL-CoVs using Clustal X. The aligned sequences were preliminarily scanned for recombination

events using Recombination Detection Program (RDP) 4.0 (ref. 19). The potential recombination events suggested by RDP owing to their strong *P* values (<10<sup>-20</sup>) were investigated further by similarity plot and bootscan analyses implemented in Simplot 3.5.1. Phylogenetic origin of the major and minor parental regions of Rs3367 or RsSHC014 were constructed from the concatenated sequences of the essential ORFs of the major and minor parental regions of selected SARS-CoV and SL-CoVs. Two genome regions between three estimated breakpoints (20,827–26,553 and 26,554–28,685) were aligned independently using ClustalX and generated two alignments of 5,727 base pairs and 2,133 base pairs. The two alignments were used to construct maximum likelihood trees to better infer the fragment parents. All nucleotide numberings in this study are based on Rs3367 genome position.

## 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 2014. 12. 6	新医薬品等の区分 該当なし	総合機構処理欄
一般的名称	新鮮凍結人血漿	研究報告の公表状況	ProMED 20131204.2092523	公表国  インド	
販売名(企業名)	新鮮凍結血漿-LR「日赤」120(日本赤十字社) 新鮮凍結血漿-LR「日赤」240(日本赤十字社) 新鮮凍結血漿-LR「日赤」480(日本赤十字社)				
研究報告の概要	○クリミア・コンゴ出血熱(CCHF) - インド、グジャラート州での発生増加 2011年にインドで初めてCCHFが報告されたグジャラート州において、アウトブレイクの規模が拡大している。専門家によると、3年間でCCHFに感染した患者が30人報告され、14人が死亡した。感染の約半数はBharwadと呼ばれる牛飼いの集団において発生している。				使用上の注意記載状況・ その他参考事項等
					新鮮凍結血漿-LR「日赤」120 新鮮凍結血漿-LR「日赤」240 新鮮凍結血漿-LR「日赤」480  血液を介するウイルス、 細菌、原虫等の感染 vCJD等の伝播のリスク
報告企業の意見		今後の対応			
インドのグジャラート州で、クリミア・コンゴ出血熱アウトブレイクが拡大しているとの報告である。		日本赤十字社では、輸血感染症対策として受付時に海外滞在歴の有無を確認し、帰国(入国)後4週間は献血不適としている。また、発熱などの体調不良者を献血不適としている。今後も引き続き、新興・再興感染症の発生状況等に関する情報の収集に努める。			

MedDRA/J Ver.16.1J

ProMED-mail |



Published Date: 2013-12-04 21:58:46  
Subject: PRO/AM/EDR > Crimean-Congo hem. fever - India (04): (GJ) Increasing incidence  
Archive Number: 20131204.2092523

\*\*\*\*\*  
CRIMEAN-CONGO HEMORRHAGIC FEVER - INDIA (04): (GUJARAT), INCREASING INCIDENCE  
\*\*\*\*\*

A ProMED-mail post  
<http://www.promedmail.org>  
ProMED-mail is a program of the  
International Society for Infectious Diseases  
<http://www.isid.org>

Date: 4 Dec 2013

Source: The Indian Express [edited]  
<http://www.indianexpress.com/news/congo-fever-outbreak-in-state-doubles-this-year/1202992/>

Outbreaks of Crimean-Congo hemorrhagic fever [CCHF] seem to have doubled in Gujarat, the 1st state to have reported the prevalence of this tick-borne viral disease in the country.

In the last 3 years [2011-2013] alone, there have been 30 positive cases and 14 deaths due to CCHF, half of which were reported in a cattle-rearing community known as the Bharwads, stated experts who participated in the day-long conference "Healthy Gujarat: Agenda For Action," organised by the Gujarat Health and Family Welfare Department on Tuesday [3 Dec 2013].

"The 1st instance of CCHF was detected in Kolat village near Ahmedabad in January 2011. That year, there were 4 outbreaks of CCHF. The year 2012 was reportedly milder, with 2 outbreaks. However, in 2013, there were as many as 8 outbreaks," said Dr Kamlesh Upadhyay, a professor in the Department of Medicine at Ahmedabad-based B Medical College & Civil Hospital.

"In the last 3 years, there have been 30 positive cases of virus infection, 50 percent of which are from the Bharwad community," added Upadhyay, who was speaking on the topic of "Disease Burden" of Gujarat. "Today, there are 14 sites in Gujarat from where CCHF has been reported," he said.

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

[Crimean-Congo haemorrhagic fever (CCHF) outbreaks have a case fatality rate of up to 40 per cent. The virus is primarily transmitted to people from ticks harboured by livestock animals. Human-to-human transmission can occur resulting from close contact with the blood, secretions, organs, or other bodily fluids of those infected. Infected domestic animals do not usually show signs of infection, which may contribute to the general lack of awareness of the disease even in endemic areas and a toleration of tick bites.

CCHF is endemic in Africa, the Balkans, the Middle East and Asia, in countries south of the 50th parallel north. There is no vaccine available for either people or animals.

A map of the states and territories of India showing the location of Gujarat in the northwest can be accessed at <http://www.mapsofindia.com/maps/india/india-political-map.gif>. - Mod CP

A HealthMap/ProMED-mail map can be accessed at: <http://healthmap.org/LLDISH/>

See Also

JRC2013T-046

Crimean-Congo hem. fever - India (03): (GJ) fatal [20130817.1886236](#)  
Crimean-Congo hem. fever - India (02): (GJ) human deaths [20130730.1854571](#)  
Crimean-Congo hem. fever - India: (GJ) [20130715.1826284](#)  
2012

-----  
Crimean-Congo hem. fever - India (03): (GJ) [20120722.1210673](#)  
Crimean-Congo hem. fever - India (02): (GJ) nosocomial [20120625.1180179](#)  
Crimean-Congo hem. fever - India: (GJ) nosocomial [20120623.1178585](#)  
2011

-----  
Crimean-Congo hem. fever - India (05): (GJ) [20110530.1653](#)  
Crimean-Congo hem. fever - India (04): (ND) alert [20110519.1518](#)  
Crimean-Congo hem. fever - India (03): (MP) susp. [20110221.0573](#)  
Crimean-Congo hem. fever - India (02): treatment [20110129.0353](#)  
Crimean-Congo hemorrhagic fever - India: (GJ) [20110123.0285](#)  
.....sb/cp/mssp/lm

---

©2001,2008 International Society for Infectious Diseases All Rights Reserved.  
Read our privacy guidelines. Use of this web site and related services is governed by the Terms of  
Service.

医薬品 研究報告 調査報告書

識別番号・報告回数		報告日	第一報入手日 2014. 12. 2	新医薬品等の区分 該当なし	総合機構処理欄
一般的名称	新鮮凍結人血漿	研究報告の公表状況	Emerging Infectious Disease Journal, Vol.19 No.12; Available from: <a href="http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/19/12/13-0589_article.htm">http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/19/12/13-0589_article.htm</a>	公表国	
販売名(企業名)	新鮮凍結血漿-LR「日赤」120(日本赤十字社) 新鮮凍結血漿-LR「日赤」240(日本赤十字社) 新鮮凍結血漿-LR「日赤」480(日本赤十字社)			ブラジル	
研究報告の概要	○ブラジル・パラ州の人獣共通感染ワクシニアウイルスの再興 2010年7月、ブラジルのアマゾン地域に位置するパラ州において、乳牛44頭と酪農従事者3人が重症発疹性のワクシニアウイルスに感染した。感染したウシの痂皮及びウシとヒトの血清サンプルからウイルスを分離し系統発生解析を行ったところ、1963年にパラ州の齧歯類から分離されたBeAN58058株(BAV)及び南米で使用された天然痘ワクチンウイルス株とは異なる株であることが明らかとなり、この地域で新規のワクシニアウイルスが定着していることが示された。				使用上の注意記載状況・その他参考事項等
					新鮮凍結血漿-LR「日赤」120 新鮮凍結血漿-LR「日赤」240 新鮮凍結血漿-LR「日赤」480  血液を介するウイルス、細菌、原虫等の感染 vCJD等の伝播のリスク
報告企業の意見		今後の対応			
2010年にブラジルのパラ州で乳牛と酪農労働者に重症発疹性のワクシニアウイルス感染が発生し、ウイルス分離株の分析を行ったところ、1963年に同地域で分離されたウイルス株及び天然痘ワクチン株とは異なることが明らかとなり、新規株の定着が示されたとの報告である。		日本赤十字社では、輸血感染症対策として受付時に海外滞在歴の有無を確認し、帰国(入国)後4週間は献血不適としている。また、発熱などの体調不良者を献血不適としている。今後も引き続き、新興・再興感染症の発生状況等に関する情報の収集に努める。			

MedDRA/J Ver.16.1J

## Reemergence of Vaccinia Virus during Zoonotic Outbreak, Pará State, Brazil

Felipe L. de Assis, Wagner M. Vinholte, José D. Barbosa, Cairo H.S. de Oliveira, Carlos M.G. de Oliveira, Kariny F. Campos, Natália S. Silva, Giliane de Souza Trindade, Jônatas S. Abrahão, and Erna G. Kroon

In 2010, vaccinia virus caused an outbreak of bovine vaccinia that affected dairy cattle and rural workers in Pará State, Brazil. Genetic analyses identified the virus as distinct from BeAN58058 vaccinia virus (identified in 1960s) and from smallpox vaccine virus strains. These findings suggest spread of autochthonous group 1 vaccinia virus in this region.

Over the past decade, several exanthematous vaccinia virus (VACV) outbreaks that affected dairy cattle and rural workers have been reported in Brazil. During outbreaks, lesions developed on teats and udders of dairy cattle and caused a decrease in milk production (1,2). Infected milkers usually had lesions on their hands; the infection was apparently transmitted by unprotected contact with infected cattle (1,2).

Molecular studies have shown that autochthonous VACVs from Brazil (VACV-BR) can be divided into 2 groups: group 1 and group 2 (3,4). Group 1 includes isolates Cantagalo, Aracatuba, Passatempo, Guarani P2, Mariana, and Pelotas 2; group 2 includes isolates Guarani P1, Pelotas1, and BeAN58058 (BAV). This molecular dichotomy is also reflected in certain biologic properties of the isolates, including virulence in the BALB/c mouse model and plaque phenotype in BSC-40 cells (1). Although each VACV strain has unique genetic characteristics, most of them are similar to each other within the same group, especially those belonging to group 1; they most likely share a common ancestor. Although some researchers believed that VACV vaccine strains could have spread from humans

to domestic animals and adapted to the rural environment (2), recent studies have suggested an independent origin for VACV isolates from South America, which is distinct from vaccine strains used in South America during the World Health Organization vaccination campaign (3,4).

Despite emergence of VACV in the past decade, VACV was also isolated during the 1960s and 1970s during government efforts to investigate emerging viruses in forests in Brazil (5–7). One of those isolates, BAV, was obtained in 1963 from the blood of a rodent in Pará State in the Amazon region of Brazil that belonged to the genus *Oryzomys* (6,7). BAV was characterized during the 1990s, and restriction pattern and nucleotide sequence data supported its classification as a VACV (6). However, since its isolation, VACV circulation has not been reported in Pará State, even after VACV outbreaks in southeastern Brazil (1).

In this report, we describe reemergence VACV during a severe exanthematous outbreak in Pará State, 47 years after isolation of BAV. Our molecular data showed that this new VACV isolate clusters with group 1 VACV-BR isolates, which is the same VACV clade related to most viruses that caused zoonotic outbreaks in rural areas of Brazil in the past decade.

### The Study

The outbreak was reported in July 2010 in Bom Jesus do Tocantins County (5°2' 60"S, 48°36'56"W), Pará State, in the Amazon region of Brazil (Figure 1, Appendix, [wwwnc.cdc.gov/EID/article/19/12/13-0589-F1.html](http://wwwnc.cdc.gov/EID/article/19/12/13-0589-F1.html)).

Dairy cattle and workers were affected. However, the source (index case) of this outbreak was not identified. At the study site, 44 lactating dairy cows became sick and had painful vesicular lesions on teats, udders, and inner thighs that rapidly progressed to ulcerative lesions and scabs (Figure 2, panels B and D). Two animals had extensive necrosis because of secondary infections, which led to loss of teats. Lesions were also observed on hips, muzzles, oral cavities, and tongues of calves (Figure 2, panel D). Three dairy workers became sick during the outbreak after direct contact with sick animals and had typical orthopoxvirus (OPV) lesions on their hands, forearms, and abdomen (Figure 2, panel A). Pain in the lesion region, fever, and fatigue were also reported by sick patients.

We collected 4 scabs and 44 serum samples from the 44 sick animals and 3 serum samples from the 3 dairy workers. Serum samples were tested by using 50% plaque reduction neutralization tests as described (8). Neutralizing antibody was detected in 40 (90.9%) bovine and in 3 (100%) human samples, and titers ranged from 20 to 640 neutralizing units/mL. Scabs were macerated in buffer and centrifuged. Supernatants were diluted 1:100 in phosphate-buffered saline and used in a nested PCR specific for the C11R viral

JRC2013T-045

Author affiliations: Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, Brazil (F.L. de Assis, G. de Souza Trindade, J.S. Abrahão, E.G. Kroon); and Universidade Federal do Pará, Pará, Brazil (W.M. Vinholte, J.D. Barbosa, C.H.S. de Oliveira, C.M.G. de Oliveira, K.F. Campos, N.S. Silva)  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3201/eid1912.130589>

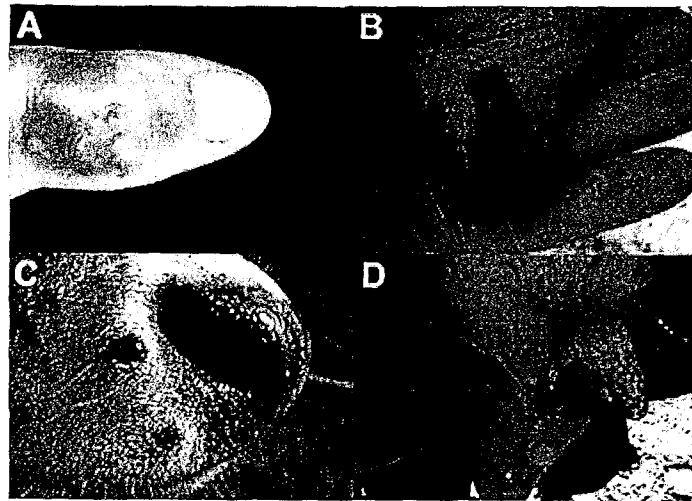


Figure 2. Exanthematic lesions caused by vaccinia virus (VACV) infection during this outbreak. A) Vesicular lesion on milker's finger that advanced to an ulcerative stage. B and D) Typical lesions on teats and udder of a dairy cow infected by VACV at different stages, ranging from ulceration to scabs. C) Lesions on a calf's muzzle probably caused by VACV infection during suckling.

growth factor gene as described (9,10). OPV-specific fragments from 2 scab samples were amplified. Samples were also subjected to virus isolation in Vero cells.

We isolated virus from 1 of the samples that was positive for viral growth factor by nested PCR. Negative results for VACV by PCR and virus isolation might have been caused by loss of virus titers and DNA degradation during sample transportation. After a typical poxvirus cytopathic effect was observed, virus was plaque purified and placed on Vero cell monolayers for viral amplification. This new VACV isolate was named Pará virus (PARV).

To investigate the relationship between PARV and BAV, virus gene A56R (hemagglutinin) was amplified and sequenced (11). The A56R gene is traditionally used for phylogenetic analysis. In addition, PARV A26L (A-type inclusion body) was also sequenced (12). The PCR fragments obtained were directly sequenced in both orientations and in triplicate by using a Mega-BACE 1000 Sequencer (GE Healthcare, Little Chalfont, UK). Sequences were aligned with OPV sequences from GenBank by using ClustalW ([www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC308517](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC308517)), and alignments were manually checked with MEGA version 4.0 software (Arizona State University, Phoenix, AZ, USA).

Optimal alignment of the A56R gene showed high identity among PARV and several group 1 VACV-BR isolates (average identity 99.8%), including VACV-TO CA (GU322359) (identity 99.9%), an amplicon obtained from blood of an Amazon monkey in Tocantins State, Brazil, in 2002 (Figure 3). PARV and BAV showed 98.3% identity with each other. PARV also showed a signature deletion

of 18 nt that was also present in A56R sequences of other group 1 VACV-BR isolates

Phylogenetic trees of the A56R (Figure 3, panel A) or A26L (Figure 3, panel B) genes were constructed by using the neighbor-joining method, 1,000 bootstrap replicates, and the Tamura 3-parameter model (MEGA version 4). PARV sequences clustered with several group 1 VACV-BRs isolated during several bovine vaccinia outbreaks in Brazil. In both trees, PARV clustered in group 1 VACV-BR, whereas BAV clustered in group 2.

### Conclusions

Our results confirm circulation of a new group 1 VACV-BR isolate in Pará State in the Amazon region of Brazil in the same location where BAV (group 2 VACV-BR) was isolated (6,7). In recent years, Bovine vaccinia outbreaks in southeastern Brazil rapidly spread to neighboring states (1). Epidemiologic studies suggest that movement of sick humans and the animal trade are the main causes of this circulation (1). The relevance of VACV circulation in the context of bovine vaccinia outbreaks has been discussed (13).

Several isolates belong to group 1, which is most commonly isolated from sick cattle or cow milkers; some isolates were detected in peridomestic rodents and wild monkeys (8,13). Therefore, although our data demonstrated that PARV does not cluster with BAV, it is not possible to phylogenetically define which group 1 isolate specifically generated PARV or caused the outbreak because of limited number of available gene sequences from VACV-BR

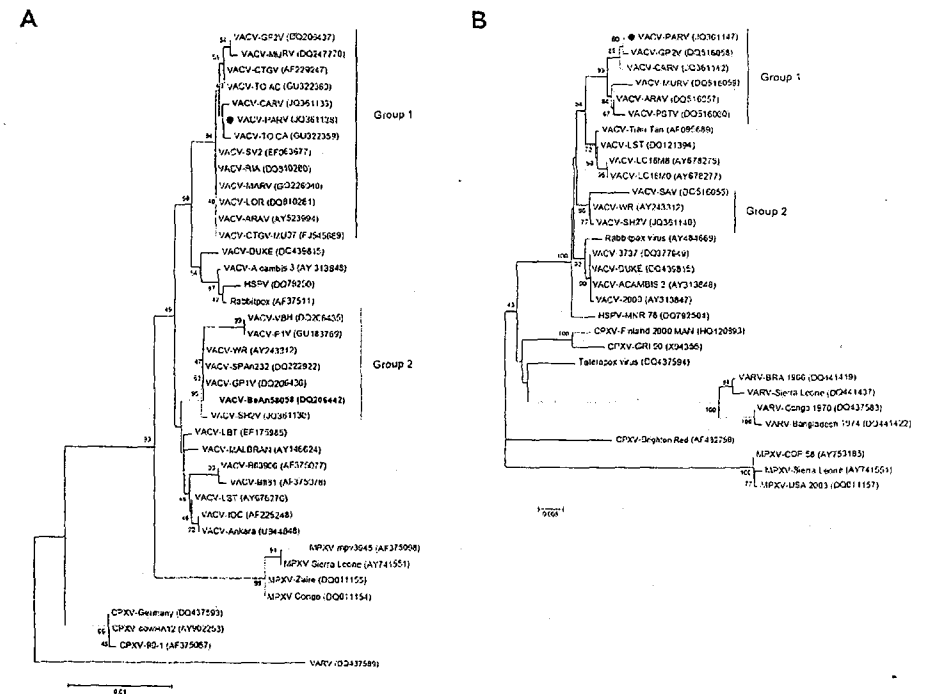


Figure 3. Phylogenetic trees based on orthopoxvirus nucleotide sequences of A56R (A) and A26L (B) genes of vaccinia virus (VACV), Pará State, Brazil. Pará virus (PARV) clusters with VACV group 1 from Brazil. Phylogenetic analysis showed that PARV (black dots) clustered in the VACV-BR-G1 clade and that BeAN58058 virus (BAV) clustered in the VACV-BR-G2 clade. A26L sequence was obtained only from PARV. Trees were constructed by using the neighbor-joining method, the Tamura-Nei model of nucleotide substitutions, and bootstrap of 1,000 replicates in MEGA version 4.0 software (Arizona State University, Phoenix, AZ, USA). In panel A, BAV is shown in boldface. GenBank accession numbers are indicated in parentheses. Values along the branches indicate bootstrap values. Scale bars indicate nucleotide substitutions per site. GP2V, Guarani P2 virus; MURV, Muíña virus; CTGV, Cantalago virus; CARV, Carangola virus; MARV, Mariana virus; ARAV, Araçatuba virus; HSPV, horsepox virus; GP1V, Guarani P1 virus; MPXV, monkeypox virus; PSTV, Passatempo; CPXV, cowpox virus; VARV, variola virus.

isolates. Nevertheless, we believe the presence of this new isolate in Pará State likely resulted from virus spread from Tocantins, Maranhão, or Mato Grosso, 3 neighboring states of Pará State, which had Bovine vaccinia outbreaks in recent years, and not from reemergence of BAV (1).

Although group 2 VACV-BR isolates, including BAV, have not been detected in the Amazon region of Brazil in recent years, we believe that these viruses may be silently circulating or associated with bovine vaccinia outbreaks. As in other regions in Brazil, VACV outbreaks are under-reported in the Amazon region because of its large size and the natural complexity involved in surveillance of zoonotic

diseases. Our results reinforce the need for studies on VACV diversity and its transmission chain, which would be useful for the Amazon region in Brazil.

### Acknowledgments

We thank our colleagues at the Universidade Federal de Minas Gerais and Universidade do Pará for technical support.

This study was supported by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais, and Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.



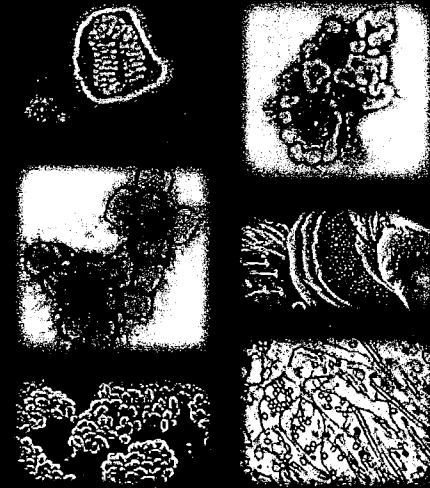
Mr de Assis is a biologist and doctoral candidate at the Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil. His research interests focus on monitoring and preventing emerging infectious diseases, and determining the phylogeny of etiologic agents.

## References

1. Kroon EG, Mota BE, Abrahão JS, Fonseca FG, Trindade GS. Zoonotic Brazilian vaccinia virus: from field to therapy. *Antiviral Res.* 2011;92:150-63. <http://dx.doi.org/10.1016/j.antiviral.2011.08.018>
2. Damaso CR, Esposito JJ, Condit RC, Moussatché N. An emergent poxvirus from humans and cattle in Rio de Janeiro State: Cantagalo virus may derive from Brazilian smallpox vaccine. *Virology.* 2000;277:439-49. <http://dx.doi.org/10.1006/viro.2000.0603>
3. Trindade GS, Emerson GL, Carroll DS, Kroon EG, Damon IK. Brazilian vaccinia viruses and their origins. *Emerg Infect Dis.* 2007;13:965-72. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1307.061404>
4. Drumond BP, Leite JA, da Fonseca FG, Bonjardim CA, Ferreira PC, Kroon EG. Brazilian vaccinia virus strains are genetically divergent and differ from the Lister vaccine strain. *Microbes Infect.* 2008;10:185-97. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micinf.2007.11.005>
5. de Souza Lopes O, Lacerda JP, Fonseca IE, Castro DP, Forattini OP, Rabello EX. Cota virus: a new agent isolated from sentinel mice in São Paulo, Brazil. *Am J Trop Med Hyg.* 1965;14:156-7.
6. Fonseca FG, Lanna MC, Campos MA, Kitajima EW, Peres JN, Golgher RR, et al. Morphological and molecular characterization of the poxvirus BeAn 58058. *Arch Virol.* 1998;143:1171-86. <http://dx.doi.org/10.1007/s007050050365>
7. da Fonseca FG, Trindade GS, Silva RL, Bonjardim CA, Ferreira PC, Kroon EG. Characterization of a vaccinia-like virus isolated in a Brazilian forest. *J Gen Virol.* 2002;83:223-8.
8. Abrahão JS, Silva-Fernandes AT, Lima LS, Campos RK, Guedes MI, Cota MM, et al. Vaccinia virus infection in monkeys, Brazilian Amazon. *Emerg Infect Dis.* 2010;16:976-9. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1606.091187>
9. Abrahão JS, Lima LS, Assis FL, Alves PA, Silva-Fernandes AT, Cota MM, et al. Nested-multiplex PCR detection of *Orthopoxvirus* and *Parapoxvirus* directly from exanthematic clinical samples. *Virol J.* 2009;6:140. <http://dx.doi.org/10.1186/1743-422X-6-140>
10. Abrahão JS, Drumond BP, Trindade Gde S, da Silva-Fernandes AT, Ferreira JM, Alves PA, et al. Rapid detection of orthopoxvirus by semi-nested PCR directly from clinical specimens: a useful alternative for routine laboratories. *J Med Virol.* 2010;82:692-9. <http://dx.doi.org/10.1002/jmv.21617>
11. Ropp SL, Jin Q, Knight JC, Massung RF, Esposito JJ. PCR strategy for identification and differentiation of small pox and other orthopoxviruses. *J Clin Microbiol.* 1995;33:2069-76.
12. Leite JA, Drumond BP, Trindade GS, Bonjardim CA, Ferreira PC, Kroon EG. Brazilian vaccinia virus strains show genetic polymorphism at the *attL* gene. *Virus Genes.* 2007;35:531-9. <http://dx.doi.org/10.1007/s11262-007-0133-9>
13. Abrahão JS, Guedes MI, Trindade GS, Fonseca FG, Campos RK, Mota BF, et al. One more piece in the VACV ecological puzzle: could peridomestic rodents be the link between wildlife and bovine vaccinia outbreaks in Brazil? *PLoS ONE.* 2009;4. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0007428>

Address for correspondence: Erna G. Kroon, Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais 31270901, Brazil; email: kroone@icb.ufmg.br

## The Public Health Image Library (PHIL)



The Public Health Image Library (PHIL), Centers for Disease Control and Prevention, contains thousands of public health-related images, including high-resolution (print quality) photographs, illustrations, and videos.

PHIL collections illustrate current events and articles, supply visual content for health promotion brochures, document the effects of disease, and enhance instructional media.

PHIL Images, accessible to PC and Macintosh users, are in the public domain and available without charge.

Visit PHIL at <http://phil.cdc.gov/phil>.

## 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
		2013. 12. 26	該当なし	
一般的名称	新鮮凍結人血漿	研究報告の公表状況	公表国	使用上の注意記載状況・ その他参考事項等
販売名(企業名)	新鮮凍結血漿-LR「日赤」120(日本赤十字社) 新鮮凍結血漿-LR「日赤」240(日本赤十字社) 新鮮凍結血漿-LR「日赤」480(日本赤十字社)		日本	
研究報告の概要	○シャーガス病母子感染、日本 2012年10月、日本在住の13歳の少年が2年前からの慢性的な便秘のため防衛医科大学病院に入院した。両親及び祖父母は1992年までボリビアに住んでいた日系人である。教会で受けた <i>Trypanosoma cruzi</i> 血清学的スクリーニングで患者と母親が <i>T. cruzi</i> 抗体陽性であり、巨大結腸症を伴う先天性シャーガス病であると診断された。ペンズニダゾールの経口投与による治療が行われ、末梢血における原虫血症及び <i>T. cruzi</i> DNAは陰性となった。 本報告は、日本を含むシャーガス病非流行国における <i>T. cruzi</i> 垂直感染を防ぐための、適切な措置の必要性を示している。			新鮮凍結血漿-LR「日赤」120 新鮮凍結血漿-LR「日赤」240 新鮮凍結血漿-LR「日赤」480  血液を介するウイルス、 細菌、原虫等の感染 vCJD等の伝播のリスク
報告企業の意見	今後の対応			
日本におけるシャーガス病母子感染の報告である。	日本赤十字社では、輸血感染症対策としてシャーガス病の既往がある場合には献血不適としている。また、中南米出身者(母親が出身を含む)、通算4週間以上の中南米滞在歴を有する献血者からの血液は、血漿分画製剤の原料のみ使用する対策を実施している。今後も引き続き情報の収集に努める。			

MedDRA/J Ver.16.1J

DISPATCHES

## Mother-to-Child Transmission of Congenital Chagas Disease, Japan

Kazuo Imai, Takuya Maeda, Yusuke Sayama,  
Kei Mikita, Yoji Fujikura, Kazuhisa Misawa,  
Moriyuki Nagumo, Osamu Iwata,  
Takeshi Ono, Ichiro Kurane, Yasushi Miyahira,  
Akihiko Kawana, and Sachio Miura

We report a patient with congenital Chagas disease in Japan. This report reemphasizes the role of neglected and emerging tropical diseases in the era of globalization. It also indicates the need for increased vigilance for detecting Chagas disease in non-disease-endemic countries.

Chagas disease, which is caused by the pathogenic protozoa *Trypanosoma cruzi*, was previously endemic only to Central and South America but is now estimated to affect up to 10 million persons worldwide (1). Recent unprecedented trends in globalization have been accompanied by the migration of ~14 million persons from disease-endemic regions to North America, Europe, Japan, and Australia. Consequently, and as predicted, sporadic reports of patients with chronic Chagas disease have emerged, and documented cases have presumably been caused by chronically infected persons who migrated from disease-endemic countries (2). Despite the wide geographic spread of patients with Chagas disease, cases of congenital transmission in non-disease-endemic countries have been documented (Table 1) (3).

It is estimated that ~300,000 immigrants from Latin America, to which Chagas disease is endemic, are currently living in Japan and that ~34,000 births from these immigrants have occurred in the past 10 years. However, vertical transmission of the disease in Japan has not been detected, probably because of the lack of screening programs for at-risk pregnant women and the disregard for the silent clinical manifestation of congenital Chagas disease.

The World Health Organization recommends that each country should strengthen its national and re-

gional capacity to prevent and control congenital transmission of infectious pathogens while improving case management (4). We report a patient with congenital Chagas disease in Japan. We also highlight the need for increasing awareness of congenital transmission and urge establishment of an appropriate diagnostic and treatment system for Chagas disease in nonendemic countries.

### The Patient

In October 2012, a 13-year-old boy in Japan was admitted to the National Defense Medical College Hospital in Saitama, Japan, for chronic constipation. His parents and grandparents were Bolivian nationals of Japanese descent who had lived in Chagas disease-endemic areas in Bolivia until 1992. In 1999, the boy was delivered full-term after an uncomplicated pregnancy in Japan but had a low birth weight. He was in excellent health and showed no signs of disease until 2 years before his admission, when he began to report chronic constipation. At that time, he had a medical examination at a Catholic church because most hospitals in Japan could not make a definitive diagnosis of Chagas disease. He underwent serodiagnostic screening for *T. cruzi* infection. The boy and his mother were seropositive for *T. cruzi*.

After admission, he reported extreme constipation and explained that he defecated only once per week. Results of laboratory tests at admission, including those for serum brain natriuretic peptide, were generally within reference ranges. However, abdominal radiography showed major distension of the colon that extended 65 mm (Figure).

The definitive diagnosis, including effectiveness of antiparasitic treatment, was confirmed by using serologic, genomic, and parasitologic methods (Table 2). An ELISA (ORTHO *T. cruzi* ELISA Test System; Ortho-Clinical Diagnostics, Raritan, NJ, USA) was performed according to the manufacturer's protocol. A nested PCR that amplifies a DNA fragment of a repetitive TCZ sequence was performed as described (5). The parasite was also isolated by blood culture on Noy, McNeal, and Nicole agar (6) and examined by light microscopy and real-time PCR. All tests showed positive results. It was later determined that the boy's mother was also seropositive for Chagas disease. The boy was given a diagnosis of congenital Chagas disease accompanied by megacolon.

The patient was treated with oral benznidazole (5 mg/kg/d for 60 days) and showed no adverse effects. Parasitemia and DNA of *T. cruzi* in peripheral blood could not be detected by the end of treatment. To ensure successful treatment and cure, we intend to clinically follow up the patient for several decades until serologic results eventually become negative (7).

Author affiliations: National Defense Medical College, Saitama, Japan (K. Imai, T. Maeda, K. Mikita, Y. Fujikura, K. Misawa, M. Nagumo, T. Ono, Y. Miyahira, A. Kawana), Japanese Red Cross Society, Tokyo, Japan (Y. Sayama, S. Miura), Tokai University Oiso Hospital, Kanagawa, Japan (O. Iwata), and National Institute of Infectious Diseases, Tokyo (I. Kurane).

DOI: <http://dx.doi.org/10.3201/eid2001.131071>

146

Emerging Infectious Diseases • www.cdc.gov/eid • Vol. 20, No. 1, January 2014

JRC2014T-003

Table 1. Patients with congenital Chagas disease in non-disease-endemic countries\*

Country	No. patients	Mother's country of origin	Age, y., at time of diagnosis	Symptoms at birth
Sweden	1	Chile	5	Asymptomatic
Spain	7	Argentina (2), Bolivia (5)	At birth (5), 2 (1), after death (1)	Asymptomatic (5), symptomatic (2)
Switzerland	2	Bolivia (2)	At birth (2)	Asymptomatic (2)
United States	1	Bolivia	At birth	Symptomatic
Japan	1†	Bolivia	13	Asymptomatic

\*Values in parentheses are no. patients.  
†Patient in this study.

Conclusions

Chagas disease is usually regarded as one of the most serious health problems in rural areas of Central and South America. However, recent successful vector control programs to reduce vector-borne transmission have dramatically changed the epidemiology of this disease (8). Mass migration of chronically infected and asymptomatic persons has caused globalization of Chagas disease, and has made nonvectorial infection, including vertical and blood-borne transmission, more of a threat to human communities than vectorial infection (9).

On the basis of local and limited serologic surveys, the presumptive number of chagasic patients living in Japan is currently 4,500, compared with >100,000 in the United States and >6,000 in Spain (2). Sporadic imported cases have been recognized and reported in Japan in the past decade, but the exact incidence is unknown. Most cases were diagnosed only after patients had critical complications, including severe cardiac involvement (10). It is also conceivable that chagasic patients with less severe cardiac symptoms or gastrointestinal involvement have sought treatment at local hospitals in Japan, where the potential for missing or misdiagnosing the disease would likely be high. The difficulty in making a correct diagnosis of Chagas disease is compounded in Japan by low awareness and recognition of the disease by medical staff; scarcity of epidemiologic or statistical data; and lack of diagnostic tools, resources, and facilities available to help with the differential diagnosis.

There is currently no laboratory test-based screening system for donated blood to detect Chagas disease in Japan. Instead, a questionnaire is used to determine if donors have any connections with disease-endemic regions. As of October 2012, to avoid transmission through transfusions, Japanese Red Cross Blood Centers no longer use donated blood for transfusions or producing blood products if the donor or donor's mother has spent ≥4 weeks in Latin America. Therefore, before 2012, it is difficult to estimate how many contaminated blood donations were overlooked in Japan.

The estimated vertical transmission rate from an infected mother to her newborn is ≈5% in Bolivia (11). If one considers that 34,000 children were born to Latin American women during the past decade in Japan and that the seroprevalence of *T. cruzi* is estimated to be 1.8%, the number of infected newborns in the past decade is ≈30. However,

there are no current screening programs for Chagas disease in Japan to detect chronically infected persons, including pregnant women and newborns.

The patient in this study had congenital chagasic infection, accompanied by advanced gastrointestinal complications. The delay in diagnosis for this patient case was caused by the absence of a screening program in Japan, a problem which also makes it impossible to determine the precise number of pregnant women and newborns with *T. cruzi* infection in this country. In Spain, the most affected country in Europe, a specific program was developed to focus on migrants from Latin American woman of childbearing age. Since its introduction, the program has contributed not only to the early diagnosis of Chagas disease but also to improvements in the quality of life and prognosis for patients (12).

Because the therapeutic efficacy of treatment, including benznidazole, for infection with *T. cruzi* is >90% in infants

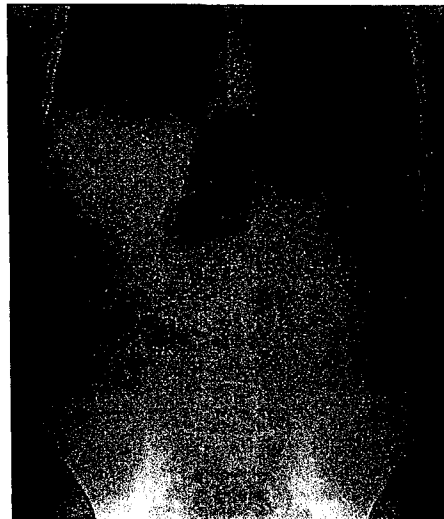


Figure. Abdominal radiograph of a 13-year-old boy with congenital Chagas disease, Japan, showing megacolon and marked dilatation at the splenic flexure.

DISPATCHES

Table 2. Clinical course of a 13-year-old boy with congenital Chagas disease, Japan, after treatment with benznidazole

Characteristic	Before treatment	Days after starting treatment		
		30	60	180
Antibody titer*	160	160	160	160
Nested PCR result	+	+	–	–
Blood culture result	+	–	–	–

\*Antibodies against *Trypanosoma cruzi*.

with congenitally transmitted Chagas disease if treated during the first year of life (13), it would be ideal for all pregnant women entering Japan from disease-endemic countries to be screened for the presence of serum antibody against *T. cruzi*. This report indicates the urgent need for implementing proper measures to prevent the vertical transmission of *T. cruzi* in non-Chagas disease-endemic countries, including Japan.

This study was partly supported by a grant for Research on Regulatory Science of Pharmaceuticals and Medical Devices from the Ministry of Health, Labor and Welfare, Japan (H23-iyaku-ippan-003).

Dr Imai is a first-year internal medicine resident at the National Defense Medical College Hospital in Saitama, Japan. His research interests include molecular diagnosis of infectious diseases and clinical parasitology.

References

- Jannin J, Salvatella R, editors. Quantitative estimates of Chagas disease in the Americas. Washington (DC): Pan American Health Organization; 2006.
- Schmunis GA. Epidemiology of Chagas disease in non-endemic countries: the role of international migration. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2007;102:75–85. <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02762007005000093>
- Oliveira I, Torrico F, Muñoz J, Gascon J. Congenital transmission of Chagas disease: a clinical approach. Expert Rev Anti Infect Ther. 2010;8:945–56. <http://dx.doi.org/10.1586/eri.10.74>
- World Health Organization. Chagas disease: control and elimination. A62/17. 62nd World Health Assembly. Geneva, May 18–22, 2009 [cited 2013 Sep 17]. [http://apps.who.int/igb/ebwha/pdf\\_files/A62/A62\\_17-en.pdf](http://apps.who.int/igb/ebwha/pdf_files/A62/A62_17-en.pdf).
- Marcon GE, Andrade PD, de Albuquerque DM, Wanderley da Silva J, de Almeida EA, Guariento ME, et al. Use of a nested-polymerase chain reaction (N-PCR) to detect *Trypanosoma cruzi* in blood samples from chronic chagasic patients and patients with doubtful serologies. Diagn Microbiol Infect Dis. 2002;43:39–43. [http://dx.doi.org/10.1016/S0732-8893\(02\)00366-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0732-8893(02)00366-8)
- World Health Organization. The leishmaniasis. Report of a WHO Expert Committee. World Health Organ Tech Rep Ser. 1984;701:1–140.
- Rassi A, Luquetti AO. Specific treatment for *Trypanosoma cruzi* infection (Chagas disease). In: Tyler KM, Miles MM, editors. American trypanosomiasis. Boston: Kluwer Academic Publishers; 2013. p. 117–25.
- Schmunis GA, Yadon ZE. Chagas disease: a Latin American health problem becoming a world health problem. Acta Trop. 2010;115:14–21. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2009.11.003>
- Muñoz J, Gómez i Prat J, Gállego M, Gimeno F, Treviño B, López-Chejade P, et al. Clinical profile of *Trypanosoma cruzi* infection in a non-endemic setting: immigration and Chagas disease in Barcelona (Spain). Acta Trop. 2009;111:51–5. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2009.02.005>
- Sato H, Tachibana H, Hasegawa I, Osawa M. Sudden death caused by chronic Chagas disease in a non-endemic country: autopsy report. Pathol Int. 2010;60:235–40. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1440-1827.2009.02503.x>
- Torrico F, Alonso-Vega C, Suarez E, Rodriguez P, Torrico MC, Dramaix M, et al. Maternal *Trypanosoma cruzi* infection, pregnancy outcome, morbidity, and mortality of congenitally infected and non-infected newborns in Bolivia. Am J Trop Med Hyg. 2004;70:201–9.
- Navarro M, Perez-Ayala A, Guionnet A, Perez-Molina JA, Navaza B, Estevez L, et al. Targeted screening and health education for Chagas disease tailored to at-risk migrants in Spain, 2007 to 2010. Euro Surveill. 2011;16:pii: 19973.
- Altecheh J, Biancardi M, Lapeña A, Ballering G, Freilich H. Congenital Chagas disease: experience in the Hospital de Niños, Ricardo Gutiérrez, Buenos Aires, Argentina. Rev Soc Bras Med Trop. 2005;38:41–5.

Address for correspondence: Takuya Maeda, Department of Infectious Diseases and Pulmonary Medicine, National Defense Medical College, 3-2 Namiki, Tokorozawa City, Saitama 359-8513, Japan; email: tmaeda@ndmc.ac.jp



GovDelivery

Manage your email alerts so you only receive content of interest to you.

Sign up for an Online Subscription: <http://wwwnc.cdc.gov/eid/subscribe.htm>

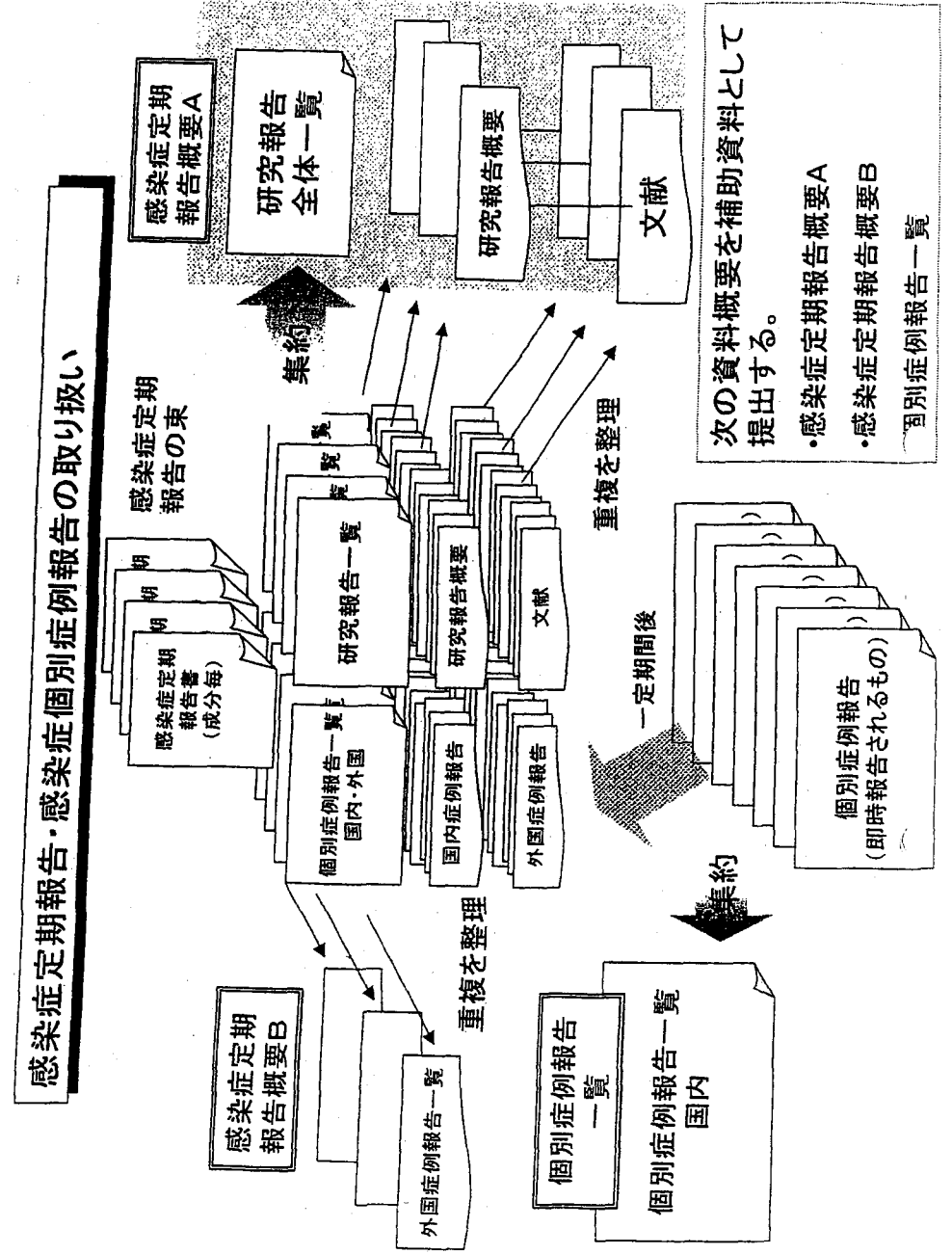
1 基本的な方針

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こと。

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。



供血者からの遡及調査の進捗状況について

(目次)

- 供血者からの遡及調査の進捗状況について  
(血液対策課事務連絡)
  
- 供血者からの遡及調査の進捗状況について (回答)  
(日本赤十字社提出資料)
  
- 薬事法第77条の4の3に基づく回収報告状況  
(平成26年2月～平成26年4月分)

事 務 連 絡

平成26年5月19日

日本赤十字社血液事業本部 御中

薬事・食品衛生審議会血液事業部会事務局  
厚生労働省医薬食品局血液対策課

供血者からの遡及調査の進捗状況について

標記につきましては、平成26年2月14日付け血安第49号にて貴社血液事業本部長より資料の提出があり、これを平成25年度第6回血液事業部会運営委員会に提出したところです。今般、平成26年6月25日に平成26年度第1回血液事業部会運営委員会を開催することといたしますので、下記の事項について改めて資料を作成いただき、平成26年5月28日(水)までに当事務局あて御提出いただきますようお願いいたします。

記

1. 「供血者の供血歴の確認等の徹底について」(平成15年6月12日付け医薬血発第0612001号)に基づく遡及調査に係る以下の事項

(1) 遡及調査実施内容

- ① 調査の対象とした献血件数
- ② 上記①のうち、調査の対象とした輸血用血液製剤の本数
- ③ 上記②のうち、医療機関に情報提供を行った本数

(2) 個別 NAT 関連情報

- ① (1) ①のうち、個別 NAT の結果が陽性となった献血件数
- ② 上記①のうち、医療機関へ供給された製剤に関する報告件数
- ③ 上記②のうち、受血者情報が判明した件数
- ④ 上記③のうち、医薬品副作用感染症報告を行った件数

2. 資料の作成に当たっての留意事項

- ① 本数又は件数については、病原体別及びその合計を明らかにすること。  
また、上記(1)の③及び(2)の①～③については、対象期間ごとに本数又は件数を記載すること。
- ② 本数又は件数については、平成26年2月14日付け血安第49号の提出時において判明したものに、その後の遡及調査の進展状況を反映させて記載すること。

供血者から始まる遡及調査実施状況

平成26年3月31日現在

Table with columns for years (Heisei 21-26) and categories (HBV, HCV, HIV). Includes sub-sections for survey implementation, individual NAT results, and transfusion-related information.

\*6例中2例はHBs抗体のみの陽転であり、輸血血液からの移行抗体等と医療機関において判断された事例である。

※血液製剤等に係る遡及調査ガイドライン(平成24年3月6日一部改正)に基づく遡及調査対応基準を適用。

HBV : HBs抗原CLEIA法確認試験(中和試験)又は個別NAT陽性の場合は遡及調査を行う。

HBc : HBc抗体CLEIA法陽転の場合は遡及調査を行う。

HCV : HCV抗体CLEIA法陽転の血液及び前回の血液について個別NATを実施し、いずれかが陽性の場合は遡及調査を行う。

HIV : HIV抗体CLEIA法で陽転し、確認試験(WB法)又は個別NAT陽性の場合は遡及調査を行う。

共通 : スクリーニングNAT陽転の場合は遡及調査を行う。

供血者から始まる遡及調査実施状況

Table with columns for survey periods (Heisei 11-21) and categories (HBV, HCV, HIV). Includes sub-sections for survey implementation, individual NAT results, and transfusion-related information.

\*受血者情報の陽転事例のうち医薬品感染症報告が行われていない平成12年3月の事例は、献血血液が遡及調査の対象(個別HBV-NAT陽性)となり、受血者の陽転化情報が得られたが、患者は原疾患により死亡した事例である。\*平成20年度は、遡及調査対応基準を改定した。(同年10月29日開催「薬事・食品衛生審議会血液事業部会運営委員会」にて了承済)

薬事法第77条の4の3に基づく回収報告状況

○平成26年2月～平成26年4月

報告日	回収開始年月日	回収対象製品	製造番号	対象本数
平成26年2月6日	平成26年2月3日	新鮮凍結血漿-LR「日赤」J400mL由来	21-8123-3930	1
平成26年2月17日	平成26年2月13日	赤血球濃厚液-LR「日赤」J400mL由来	50-0226-1741	1
平成26年3月5日	平成26年2月28日	照射濃厚血小板-LR「日赤」10単位 約200mL	50-2039-3208	1
平成26年3月20日	平成26年3月17日	照射赤血球濃厚液-LR「日赤」J400mL由来	31-1027-8470	1
平成26年3月31日	平成26年3月27日	照射赤血球濃厚液-LR「日赤」J400mL由来	50-0223-1887	1
平成26年5月7日	平成26年5月2日	照射赤血球濃厚液-LR「日赤」J400mL由来	39-4025-6863	1
平成26年5月13日	平成26年5月9日	新鮮凍結血漿-LR「日赤」J400mL由来	55-5024-9423	1



資料 3 - 2

血液製剤に関する医療機関からの感染症報告事例等について

- 輸血用血液製剤で感染が疑われる事例(劇症肝炎例、死亡例等)  
新規報告: なし
- 感染症報告事例のまとめについて
- 試行的 HEV 20 プール NAT 実施状況について
- 血液製剤に関する報告事項について(血液対策課事務連絡)
- 血液製剤に関する報告事項について(日本赤十字社提出資料)

< 参 考 >

- ・ 安全対策業務の流れ

# 輸血用血液製剤で感染が疑われる事例について

(平成26年6月時点。過去5年間分)

## 【HBV感染が疑われた事例】

報告日	輸血された血液製剤	供血者数	供血者検査結果等	同一血液由来の他製剤等について	新規報告
H21.11.20	新鮮凍結血漿 血小板製剤 赤血球製剤	45人	保管検体個別 NAT 全て陰性 感染が疑われる輸血時の製剤の 供血者 45人中 43人 来訪 (43人の個別 NAT は全て陰性。 うち 2人は HBs 抗体のみ陽性で、 その当該献血時については、1人は HBs 抗体のみ陽性、もう 1人は HBs 抗体及び HBe 抗体が陽性)	原料血漿：20本中 2本確保。18本使用済み。 新鮮凍結血漿：3本全て供給済み。 赤血球製剤：22本全て供給済み。	平成25年2月21日以降、残る2人の 来訪なし。
H24.10.15	血小板製剤 赤血球製剤	15人	保管検体個別 NAT 全て陰性 供血者 15人中 11人 来訪 HBV 関連検査陰性：11人	原料血漿：14本中 6本確保。1本廃棄。7本使 用済み。 新鮮凍結血漿：1本全て確保。	平成25年2月21日以降、残る4人の 来訪なし。

## 【HCV感染が疑われた事例】

報告日	輸血された血液製剤	供血者数	供血者検査結果等	同一血液由来の他製剤等について	新規報告
H24.2.8	新鮮凍結血漿 赤血球製剤	11人	保管検体個別 NAT 全て陰性 供血者 11人中 9人 来訪 HCV 関連検査陰性：9人	原料血漿：7本全て確保。 新鮮凍結血漿：1本全て確保。 赤血球製剤：3本全て使用済み。	平成25年2月21日以降、残る2人の 来訪なし。

## 感染症報告事例のまとめについて (平成26年2月～平成26年4月報告分)

- 平成26年2月～平成26年4月に報告(新規及び追加)があった感染症報告(疑い事例を含む)は、輸血用血液製剤26件である。  
輸血用血液製剤の内訳は、
  - HBV 感染症報告事例： 11件
  - HCV 感染症報告事例： 7件
  - HIV 感染症報告事例： 0件
  - その他の感染症報告例： 8件 (CMV 4件、細菌 4件)
- HBV 感染症報告事例
  - 輸血後に抗体検査等が陽性であった事例は11件。
  - 上記(1)のうち、献血者の保管検体の個別 NAT 陽性の事例は1件。
  - 劇症化又は輸血後に死亡(原疾患又は他の原因による死亡を除く)したとの報告を受けた事例は0件。
- HCV 感染症報告事例
  - 輸血後に抗体検査等が陽性であった事例は7件。
  - 上記(1)のうち、献血者の保管検体の個別 NAT 陽性の事例は0件。
  - 劇症化又は輸血後に死亡(原疾患又は他の原因による死亡を除く)したとの報告を受けた事例は0件。
- HIV 感染症報告事例
  - 輸血後に抗体検査等が陽性であった事例は0件。
  - 上記(1)のうち、献血者の保管検体の個別 NAT 陽性の事例は0件。
  - 輸血後に死亡(原疾患又は他の原因による死亡を除く)したとの報告を受けた事例は0件。
- その他の感染症報告事例
  - B型肝炎及びC型肝炎以外の肝障害報告事例は0件。
  - 細菌等感染報告事例において、当該輸血用血液の使用済みバッグを用いた無菌試験が陽性事例は0件。
  - 上記(2)のうち、輸血後に死亡(原疾患又は他の原因による死亡を除く)したとの報告を受けた事例は0件。

【国内輸血用血液製剤例】

日赤番号	個別番号	FAX受付日	報告受付日	販売名(一般名)	患者性別	年代	原疾患(病名)	感染疾患	投与前検査(年月)	投与後検査(年月)	日赤投与前検査	日赤投与後検査	受血者個別NAT	献血者個別NAT	併用血液製剤等	備考	使用単位数	献血者再献血	同一献血者製剤確保	同一献血者製剤使用	重篤性(担当医の見解)	転帰	献血者発症及 の検査結果	
<b>輸血によるHBV感染報告例(疑い例を含む。)</b>																								
<b>献血者の保管検体の個別NATが陽性の事例</b>																								
3-1400005	A-13000106	2014/1/27	2014/2/7	照射赤血球濃厚液-LR(人赤血球濃厚液(放射線照射))	男	80	消化器腫瘍	白血球減少	HBsAg(-) (13/03)	HBV-DNA(+), HBsAg(-), HBsAb(-), HBeAb(-) (14/01) (選及調査による情報提供により実施した検査結果)	HBV-DNA(+) HBsAg(-) HBsAb(-) HBeAb(-) (14/01)	陽性(輸血後)	保管検体1本 HBV-DNA(+)		【献血者陽性化情報】 当該 2013年9月 HBV関連検査 陽性 個別HBV-NAT 陽性(選及調査) 次回 2013年12月 HBs抗原 陽性 HBs抗体 陽性(陽性献血者) 個別HBV-NAT 陽性	1単位				1本の原料血漿を製造、確保済み。	非重篤	未回復	患者検体と献血者検体とでPreS/Sを含むP領域の前半部155bpの塩基配列を比較したところ全て一致した。献血者と患者のHBVはGenotype Bであった。	
<b>輸血後の抗体検査等で陽性であった事例</b>																								
3-1400004	A-13000104	2014/01/16	2014/01/27	照射赤血球濃厚液-LR(人赤血球濃厚液(放射線照射)) 新鮮凍結赤血漿-LR(新鮮凍結赤血漿)	男	30	外傷性疾患	白血球減少	HBsAg(-) HBsAb(-) HBeAb(-) HBcAb(-) (13/07)	HBsAg(+) HBsAb(-) HBV-DNA(+) HBsAg(-) HBeAb(+) HBeAg(+) HBcAb(+) (13/11)	HBV-DNA(-) HBsAg(-) HBsAb(-) HBeAb(-) (13/07)	陽性(輸血後)	保管検体10本(全部) HBV-DNA(-)				10単位 10単位	7/10 (HBV関連検査陽性)			2本の原料血漿、3本の新鮮凍結赤血漿-LRを製造、原料血漿は確保済み。	重篤	軽快	
3-1400007	A-13000108	2014/1/30	2014/2/12	照射赤血球濃厚液-LR(人赤血球濃厚液(放射線照射))	女	50	血液疾患	白血球減少	HBsAg(-) HBsAb(-) HBeAb(-) (13/05)	HBsAg(-), HBsAb(-), HBeAb(-) (13/06) HBsAg(-), HBsAb(-), HBeAb(-), HBeAb(+), HBeAg(+) (13/08) HBsAg(-) (13/09) HBV-DNA(+), HBsAg(+), HBsAb(-), HBeAb(+), HBeAg(-), HBeAb(+) (14/01)	HBV-DNA(-) HBsAg(-) HBsAb(-) HBeAb(-) (13/05)	陽性(輸血後)	保管検体4本(全部) HBV-DNA(-)				8単位	2/4(1人はHBV関連検査陽性、1人はHBs抗体およびHBc抗体陽性であり当該献血時同様。)			1本の原料血漿、3本の新鮮凍結赤血漿-LRを製造、原料血漿は確保済み。	重篤	軽快	

日赤番号	個別番号	FAX受付日	報告受付日	販売名(一般名)	患者性別	年代	原疾患(病名)	感染疾患	投与前検査(年月)	投与後検査(年月)	日赤投与前検査	日赤投与後検査	受血者個別NAT	献血者個別NAT	併用血液製剤等	備考	使用単位数	献血者再献血	同一献血者製剤確保	同一献血者製剤使用	重篤性(担当医の見解)	転帰	献血者発症及 の検査結果		
3-1400008	A-13000109	2014/2/3	2014/2/18	赤血球M-A-P(人赤血球濃厚液) 赤血球濃厚液-LR(人赤血球濃厚液) 新鮮凍結赤血漿(新鮮凍結赤血漿)	女	50	生腫瘍	白血球減少	HBsAg(-) (08/11)	HBsAg(-) HBV-DNA(+), HBsAg(+), HBsAb(-), HBeAb(+), HBeAg(-) (12/12) HBV-DNA(+), HBsAg(-), HBeAb(+), HBeAg(-) (14/01) HBsAg(-), HBeAg(+), HBeAb(-) (14/01)	HBV-DNA(+) HBsAg(+) HBsAb(-) HBeAb(+) IgM-HBeAb(+) (14/02)	陽性(輸血後)	保管検体10本(全部) HBV-DNA(-)				8単位 2単位 10単位	9/10 (HBV関連検査陽性)			9本の原料血漿、1本の新鮮凍結赤血漿-LR、2本の赤血球濃厚液を製造。	原料血漿は全て使用済み。新鮮凍結赤血漿-LR及び赤血球濃厚液は全て医療機関へ供給済み。	非重篤	軽快	
3-1400013	A-13000115	2014/3/3	2014/3/13	新鮮凍結赤血漿-LR(新鮮凍結赤血漿)	女	70	脳疾患	白血球減少	HBsAg(-) (13/09)	HBV-DNA(+) HBsAg(+) HBsAb(-) HBeAb(+) IgM-HBeAb(+) (14/02)	HBV-DNA(+) HBsAg(+) HBsAb(-) HBeAb(+) (14/02)	陽性(輸血後)	保管検体2本(全部) HBV-DNA(-)				240ml 2単位	2/2 (HBV関連検査陽性)			2本の赤血球濃厚液-LRを製造。	全て医療機関へ供給済み。	重篤	軽快	
3-1400014	A-13000116	2014/3/6	2014/3/18	照射赤血球濃厚液-LR(人赤血球濃厚液(放射線照射)) 照射赤血球濃厚液-LR(人赤血球濃厚液(放射線照射))	男	60	血液腫瘍	白血球減少	HBsAg(-) (13/05) HBsAg(-) (13/05)	HBV-DNA(-) (13/06) HBsAg(+) (14/02) HBV-DNA(+), HBsAg(+), HBeAb(-) (14/02)	HBV-DNA(-) HBsAg(-) HBsAb(-) HBeAb(-) (13/05) HBV-DNA(+) HBsAg(+) HBsAb(-) HBeAb(-) (14/03)(輸血後)	陽性(輸血後)	保管検体19本(全部) HBV-DNA(-)				16単位 110単位	13/19 (HBV関連検査陽性)			16本の原料血漿、3本の新鮮凍結赤血漿-LRを製造。	原料血漿は全て使用済み。新鮮凍結赤血漿-LRは全て医療機関へ供給済み。	非重篤	未回復	
3-1400017	A-13000120	2014/3/14	2014/3/25	照射赤血球濃厚液-LR(人赤血球濃厚液(放射線照射))	男	50	腎臓系疾患	白血球減少	HBV-DNA(-) (12/10) HBV-DNA(-) (13/02) HBsAg(-) (13/05) HBV-DNA(-) (13/06) HBV-DNA(-) (13/09)	HBV-DNA(+) HBsAg(-), IgM-HBeAb(+) (14/02) HBsAg(-), HBeAb(+) (13/11)	HBV-DNA(-) HBsAg(-) HBsAb(-) HBeAb(-) (14/02) HBV-DNA(-) HBsAg(-) HBsAb(-) HBeAb(-) (14/03)	陽性(輸血後)	保管検体4本(全部) HBV-DNA(-)				8単位	0/4			2本の原料血漿、2本の新鮮凍結赤血漿-LRを製造、全て確保済み。		非重篤	軽快	

日赤番号	個別番号	FAX受付日	報告受付日	販売名(一般名)	患者性別	年代	原疾患(病名)	感染症名	投与前検査(年月)	投与後検査(年月)	日赤投与前検査	日赤投与後検査	受血者個別NAT	献血者個別NAT	併用血液製剤等	備考	使用単位数	献血者再献血	同一献血者製剤使用	同一献血者製剤使用	重篤性(担当医の見解)	転帰	献血者発症及 献血者の検査種
3-1400020	A-14000003	2014/3/31	2014/4/11	照射赤血球濃厚液-LR(人赤血球濃厚液)(放射線照射)	女	20	虚科(出血)	巨脾肝炎	13/0/8	HBsAg(-) HBsAb(+) HBeAg(-) HBeAb(-) HBcAb(+)	HBsAg(+), HBsAb(-), HBeAg(-), HBeAb(+), HBcAb(+)	HBV-DNA(-) HBsAg(-) HBsAb(+) HBeAg(-) HBeAb(-) HBcAb(-)	HBV-DNA(+) HBsAg(+) HBsAb(-) HBeAg(+) HBeAb(+) HBcAb(+)	陰性(輸血前)	保管検体35本(全部)HBV-DNA(-)	加糖人血漿たん白	34単位 32単位 20単位	25/35(HBV関連検査陰性)	19本の原料血漿、16本の赤血球濃厚液-LRは全て原料血漿は1本確保済み。	原料血漿は26本使用済み。赤血球濃厚液-LRは全て医療機関へ供給済み。	重篤	未回復	
3-1400024	A-14000009	2014/4/11	2014/4/23	赤血球濃厚液-LR(人赤血球濃厚液)	女	90	循環器疾患	巨脾肝炎	13/0/8	HBV-DNA(+) HBsAb(-) HBeAg(-) HBeAb(+)	HBsAg(-), HBcAb(+)	HBV-DNA(+) HBsAg(+) HBsAb(-) HBeAg(+) HBeAb(+) HBcAb(+)	陰性(輸血後)	保管検体35本(全部)HBV-DNA(-)		1/5(HBV関連検査陰性)	1本の原料血漿、4本の新鮮凍結血漿-LRを製造。	原料血漿は2本使用済み。新鮮凍結血漿-LRは全て医療機関へ提供済み。	非重篤	未回復			
3-1400027	A-14000013	2014/4/23	2014/4/30	照射赤血球濃厚液-LR(人赤血球濃厚液)(放射線照射)	男	20	外傷・整形外科疾患	巨脾肝炎	13/0/10	HBsAg(-)	HBsAg(+), HBsAb(-), HBcAb(+), HBeAg(+), HBeAb(-)	HBV-DNA(+), IgM-HBcAb(-)	調査中	調査中	保管検体35本についてHBV-NAT実施予定。	乾燥人フィブリン	8単位 28単位 20単位 3.80OmL	調査中	調査中	調査中	重篤	回復	
3-1400028	A-14000015	2014/4/24	2014/4/30	照射赤血球濃厚液-LR(人赤血球濃厚液)(放射線照射)	女	60	脳疾患	巨脾肝炎	14/0/1	HBsAg(-) HBsAb(+) HBeAg(-) HBeAb(-)	HBsAg(+) HBsAb(-), HBcAb(-), HBeAg(-), HBeAb(-)	HBV-DNA(+), IgM-HBcAb(-)	調査中	調査中	保管検体2本についてHBV-NAT実施予定。		4単位	調査中	調査中	調査中	重篤	未回復	

輸血前後で陽性該当なし

日赤番号	個別番号	FAX受付日	報告受付日	販売名(一般名)	患者性別	年代	原疾患(病名)	感染症名	投与前検査(年月)	投与後検査(年月)	日赤投与前検査	日赤投与後検査	受血者個別NAT	献血者個別NAT	併用血液製剤等	備考	使用単位数	献血者再献血	同一献血者製剤使用	同一献血者製剤使用	重篤性(担当医の見解)	転帰	献血者発症及 献血者の検査種
<b>輸血によるHCV感染報告例(疑い例を含む。)</b>																							
<b>献血者の保管検体の個別NATが陽性の事例</b>																							
該当なし																							
<b>輸血後の抗体検査等で陽性であった事例</b>																							
3-1400002	A-13000102	2014/01/14	2014/01/27	照射赤血球濃厚液-LR(人赤血球濃厚液)(放射線照射)	女	70	腎・泌尿器疾患	C型肝炎	13/0/6	HCVコア抗原(-) HCV-Abs(-)	HCVコア抗原(+) HCV-Abs(+)	HCV-RNA(-)	HCV-RNA(+) HCV-Abs(+)	陰性(輸血前)	保管検体2本(全部)HCV-RNA(-)		2単位	0/2	2本の原料血漿を製造、1本は確保済み。	原料血漿1本は使用済み。	非重篤	未回復	
3-1400003	A-13000103	2014/01/16	2014/01/27	照射赤血球濃厚液-LR(人赤血球濃厚液)(放射線照射)	女	70	外傷・整形外科疾患	C型肝炎	13/0/10	HCVコア抗原(-)	HCVコア抗原(+) HCV-Abs(+)	HCV-RNA(-)	HCV-RNA(+) HCV-Abs(+)	陰性(輸血前)	保管検体25本(全部)HCV-RNA(-)		34単位 120OmL 35単位	6/25(HCV関連検査陰性)	10本の原料血漿、10本の新鮮凍結血漿-LR、5本の赤血球濃厚液-LRを製造。原料血漿、新鮮凍結血漿-LRは全て確保済み。	赤血球濃厚液-LRは全て医療機関へ供給済み。	非重篤	不明	
3-1400009	A-13000110	2014/2/5	2014/2/18	照射赤血球濃厚液-LR(人赤血球濃厚液)(放射線照射)	男	30	循環器疾患	C型肝炎	13/0/9	HCV-Abs(-)	HCV-Abs(+) HCV-RNA(+), HCV-Abs(+)	HCV-RNA(-)	HCV-RNA(+) HCV-Abs(+)	陰性(輸血前)	保管検体10本(全部)HCV-RNA(-)		30単位 168OmL	10/10(HCV関連検査陰性)	3本の原料血漿、7本の赤血球濃厚液-LRを製造。原料血漿は全て確保済み。	赤血球濃厚液-LRは全て医療機関へ供給済み。	重篤	未回復	

日赤番号	識別番号	FAX受付日	報告受付日	献血者(一般名)	献血者性別	年代	原疾患(輸血時)	感染疾患名	投与前検査(年月)	投与後検査(年月)	日赤投与前検査	日赤投与後検査	献血者個別NAT	献血者個別NAT	併用血液製剤等	備考	使用単位数	献血者再献血	同一献血者製剤確保	同一献血者製剤使用	重篤性(担当医の見解)	転帰	献血者発症及の場合の献血者の検査種
3-1400011	A-13000113	2014/2/24	2014/3/6	照射赤血球濃厚液-LR(人赤血球濃厚液(放射線照射))	男	68	外傷・整形外科的疾患その他の疾患	C型肝炎	13/1/11 HCV-Ab(-) (13/08) HCVコア抗原(-) (13/11)	13/1/11 HCV-Ab(+) (14/02) HCV-RNA(+) (14/02) HCV-RNA(+) (14/03) HCV-Ab(+) (14/03)	HCV-RNA(-) (13/11)	HCV-RNA(+) (14/02) HCV-Ab(+) (14/03)	陰性(輸血前)	保腎抗体4本(全部) HCV-RNA(-)			6単位	2/4 (HCV関連検査陰性)	3本の原料血漿、1本の新鮮凍結血漿-LRを製造。全て確保済み。		非重篤	未回復	
3-1400012	A-13000114	2014/2/27	2014/3/13	照射赤血球濃厚液-LR(人赤血球濃厚液(放射線照射))	女	60	血液疾患・泌尿器疾患・糖尿病・循環器疾患その他の疾患	C型肝炎	13/0/14 HCVコア抗原(-) (13/07) HCV-Ab(-) (14/01/31) 検査結果を受けて保腎抗体にて検査実施 HCV-Ab(-) (13/11) HCVコア抗原(+) (14/01) HCV-Ab(+) (14/02)	13/0/14 HCV-Ab(-) (13/05) HCVコア抗原(-) (13/07) HCV-Ab(-) (14/01) HCV-Ab(+) (14/02)	HCV-Ab(-) (13/05)	HCV-RNA(+) (14/02) HCV-Ab(+) (14/02)	陰性(輸血後)	保腎抗体4本(全部) HCV-RNA(-)		8単位	3/4 (HCV関連検査陰性)	3本の原料血漿、1本の新鮮凍結血漿-LRを製造。	原料血漿は全て使用済み。新鮮凍結血漿-LRは医療機関へ供給済み。	非重篤	未回復		
3-1400016	A-13000119	2014/3/14	2014/3/25	照射赤血球濃厚液-LR(人赤血球濃厚液(放射線照射))	女	70	外傷・整形外科的疾患その他の疾患	C型肝炎	11/1/11 HCV-Ab(+) (13/11) HCV-RNA(-) (13/12) HCV-Ab(+) (14/02)	11/1/11 HCV-Ab(+) (13/11) HCV-RNA(-) (13/12) HCV-Ab(+) (14/02)	HCV-Ab(+) (13/11)	HCV-RNA(+) (14/02) HCV-Ab(+) (14/02)		保腎抗体2本(全部) HCV-RNA(-)		4単位	1/2 (HCV関連検査陰性)	2本の新鮮凍結血漿-LRを製造。	全て医療機関へ供給済み。	非重篤	軽快		

日赤番号	識別番号	FAX受付日	報告受付日	献血者(一般名)	献血者性別	年代	原疾患(輸血時)	感染疾患名	投与前検査(年月)	投与後検査(年月)	日赤投与前検査	日赤投与後検査	献血者個別NAT	献血者個別NAT	併用血液製剤等	備考	使用単位数	献血者再献血	同一献血者製剤確保	同一献血者製剤使用	重篤性(担当医の見解)	転帰	献血者発症及の場合の献血者の検査種
3-1400019	A-14000002	2014/3/27	2014/4/8	赤血球濃厚液-LR(人赤血球濃厚液) 照射赤血球濃厚液-LR(人赤血球濃厚液(放射線照射)) 照射濃厚血小版-LR(人血小版濃厚液(放射線照射))	女	70	血液循環血液疾患	C型肝炎	13/1/2-14/0/0/3 HCVコア抗原(-) (13/11) HCVコア抗原(+) (14/03) HCV RNA(+) (14/03)	13/1/2-14/0/0/3 HCVコア抗原(-) (14/01) HCVコア抗原(+) (14/03) HCV RNA(+) (14/03)	HCV-RNA(-) (13/10)	HCV-RNA(-) (14/01)(輸血期間中) HCV-RNA(+) (14/03) HCV-Ab(-) (14/03)(輸血後)	陰性(輸血前)	保腎抗体84本(全部) HCV-RNA(-)		30単位 10単位 720単位	22/84 (HCV関連検査陰性)	82本の原料血漿、2本の新鮮凍結血漿-LRを製造。原料血漿は全て確保済み。新鮮凍結血漿-LRは全て確保済み。		非重篤	不明		

輸血前後で陽性  
(該当例なし)

輸血によるHIV感染報告例(疑い例を含む。)

献血者の保腎抗体の個別NATが陽性の事例  
(該当例なし)

輸血後の抗体検査等で陽性であった事例  
(該当例なし)

輸血前後で陽性  
(該当例なし)

日赤番号	識別番号	FAX受付日	報告受付日	販売名(一般名)	患者性別	年代	原疾患(病名)	感染症名	投与年月	投与前検査(年月)	投与後検査(年月)	日赤投与前検査	日赤投与後検査	受血者個別 NAT	献血者個別 NAT	併用血液製剤等	備考	使用単位数	供血者再献血	同一供血者製剤確保	同一供血者製剤使用	重篤性(担当医の見解)	転帰	供血者発症及 の場合の供血 者の検査値
------	------	--------	-------	----------	------	----	---------	------	------	-----------	-----------	---------	---------	-----------	-----------	---------	----	-------	--------	-----------	-----------	-------------	----	---------------------------

輸血によるCMV感染報告例(疑い例を含む。)

輸血後の抗体検査等で陽性であった事例

3-1400022	A-14000007	2014/4/8	2014/4/21	照射赤血球濃厚液-LR(人赤血球濃厚液(放射線照射))	男	0	その他疾患	サイトメガロウイルス感染	13/12		CMV-IgM-Ab(+) CMV-IgG-Ab(+) (14/03)		調査中	調査中				2単位		1本の新鮮凍結血漿を製造。	調査中	非重篤	回復		
3-1400023	A-14000008	2014/4/10	2014/4/23	照射赤血球濃厚液-LR(人赤血球濃厚液(放射線照射)) 新鮮凍結血漿-LR(新鮮凍結血漿) 照射濃厚血小坂-LR(人血小坂濃厚液(放射線照射))	男	0	その他疾患	サイトメガロウイルス感染	13/10-11		CMV-IgM-Ab(±), CMV-IgG-Ab(+) (13/11) 尿中CMV-Ab(-) (13/11) CMV抗原(+), CMV-IgM-Ab(-) (13/11) CMV-IgM-Ab(-) (13/11) CMV抗原(+) (13/11) CMV抗原(-) (13/12) CMV抗原(-), CMV-IgM-Ab(-), CMV-IgG-Ab(+) (14/01)								6単位 960mL 50単位		調査中	調査中	重篤	未回復	

3-1400025	A-14000010	2014/4/11	2014/4/24	照射赤血球濃厚液-LR(人赤血球濃厚液(放射線照射))	女	0	その他疾患	サイトメガロウイルス感染	14/01		CMV-IgM-Ab(±), CMV-IgG-Ab(+) (14/03) 【母親のCMV関連検査】 CMV-IgM-Ab(-), CMV-IgG-Ab(-) (14/01)							4単位		調査中	調査中	非重篤	軽快	
3-1400015	A-1300018	2014/3/13	2014/3/25	照射赤血球濃厚液-LR(人赤血球濃厚液(放射線照射))	女	0	その他疾患 先天性疾患	サイトメガロウイルス感染	14/01-02		CMV-IgM-Ab(-), CMV-IgG-Ab(+) (14/02) CMV-IgM-Ab(+), CMV-IgG-Ab(+) (14/02) CMV-p65抗原(-) (14/03)		CMV-DNA(+) CMV-IgM-Ab(+) CMV-IgG-Ab(+) (14/03)	陽性(輸血後)	保管検体2本 CMV-DNA(-)			3単位		2本の原科血漿を製造		重篤	未回復	

日赤番号	別番号	FAK受付日	報告受付日	販売名(一般名)	患者性別	年代	原疾患(病名)	感染症名	投与前検査(年月)	投与後検査(年月)	日赤投与前検査	日赤投与後検査	受血者種別 NAT	献血者種別 NAT	併用血液製剤等	備考	使用単位数	供血者再献血	同一供血者製剤確保	同一供血者製剤使用	重篤性(担当医の見解)	転帰	供血者発症及の供者の検査
<b>輸血による細菌感染報告例(疑い例を含む。)</b>																							
<b>輸血後の抗体検査等で陽性であった事例のうち、保管検体等の無菌試験陽性事例</b>																							
<b>輸血後の抗体検査等で陽性であった事例のうち、保管検体等の無菌試験で陽性が確認されない事例</b>																							
3-1400026	A-1400012	2014/4/17	2014/4/30	照射赤血球濃厚液-LR(人赤血球濃厚液(放射線照射))	男	60	血液疾患	敗血症	14/03 14/03 14/04	BT 36.5°C BP 166/79 (14/03)						当該製剤のセグメントチューブ(2本)で細菌培養試験を実施する予定。	4単位		調査中	調査中	重篤	軽快	
輸血開始5分後 BT 37.2°C, BP 157/58, 輸血終了時 BT 38.5°C, BP 155/72。 翌日 BT 36.4°C, BP 140/73, 輸血開始、輸血開始5分後 BT 36.4°C, BP 131/71, 輸血終了時 BT 36.4°C, BP 138/77, 輸血終了2時間後 悪寒あり, BT 39.5°C, BP 142/63, アセトアミノフェン内服し一自解熱。 翌日 6:10 悪寒, 11:20 BT 38.6°C, BP 101/96, ジクロフェナク坐(25)挿入, 15:30 BT 36.2°C, BP 94/44, 輸血開始、輸血開始5分後 BT 36.7°C, BP 92/48, 輸血終了時 BT 37.1°C, BP 94/34, 輸血終了1時間半後 悪寒あり, BT 39.2°C, BP 90/53, メチルプレドニゾン(250)点滴静注。 輸血終了翌日 BT 37.2°C, BP 97/53。 輸血終了7日後 発熱なし, BP 107/63, 血圧1セット実施。血圧低下、腎不全、肝機能低下、CRP上昇、下痢。 輸血終了7日後 BT 38.8°C, BP 111/76。 輸血終了7-6日後 発熱なし。 輸血終了7日後 38-39°C 発熱繰り返す, BP 140-160/60-90。 輸血終了9日後 腎不全、肝機能回復、下痢、熱発熱、輸血終了9-13日後 38-39°C 発熱繰り返す, BP 140-160/60-90。 院内にて実施の患者血液培養よりEnterobacter aerogenesを同定した。																							
3-1400010	A-1300012	2014/2/17	2014/2/26	照射濃厚血小板-LR(人血小板濃厚液(放射線照射))	男	60	血液疾患	敗血症 ショック	14/02 14/02							投与中止の当該製剤(1本)での細菌培養試験結果：陰性	10単位		1本の原料血漿を製造、確保済み。	非重篤	回復		
輸血開始5分後、10分後異常なし。1時間10分後 悪寒あり, BT 36.6°C。血圧測定するも微弱でtachycardia(RR 160台)、BP 70(触診)輸血中止。 生食500mLでライン確保。 輸血不快感もVOC進行するも異常なし。呼吸困難感あり、O2 3L開始(輸血前SpO2 98-輸血後SpO2 98)。 左内頸静脈よりCVライン挿入。プレドニ40mg、メロヘン0.5g投与。 輸血中止1時間後 その後快癒着く、発熱なし。 院内にて実施の患者血液培養よりグラム陽性球菌(MRS)を検出しより1週間前の患者検体を用いて再検査(血液培養)をしたところMRSを検出。																							

日赤番号	別番号	FAK受付日	報告受付日	販売名(一般名)	患者性別	年代	原疾患(病名)	感染症名	投与前検査(年月)	投与後検査(年月)	日赤投与前検査	日赤投与後検査	受血者種別 NAT	献血者種別 NAT	併用血液製剤等	備考	使用単位数	供血者再献血	同一供血者製剤確保	同一供血者製剤使用	重篤性(担当医の見解)	転帰	供血者発症及の供者の検査
<b>輸血後検査で陰性が確認された事例</b>																							
3-1400018	A-1400001	2014/3/24	2014/4/3	照射濃厚血小板-LR(人血小板濃厚液(放射線照射)) 照射赤血球濃厚液-LR(人赤血球濃厚液(放射線照射))	男	70	血液疾患	細菌感染	14/03 14/03	BT 36.8°C BP 124/58 HR 69 (14/03)						当該製剤のセグメントチューブ(PC)及び投与中止の当該製剤(RCC)の2本での細菌培養試験：陰性	10単位 2単位		2本の原料血漿を製造。原料血漿は全て確保済み。	重篤	未回復		
PC輸血開始。開始5分後BP 111/60, HR 65 約2時間後PC輸血終了。 終了時 右肩-左腕-顔面に発赤あり、ヒドロコルチゾン100mg+生食20mL静注。 その後の経過観察にて発赤消失を確認。RCC輸血開始。 約1時間後 RCC約50mL輸血後、悪寒・戦慄あり, BT 37.6°C, BP 170/70, HR 80。 RCC輸血中止し、生食減下で様子観察。 RCC輸血中止約40分後 BT 37.8°C, BP 151/88, HR 88, 悪寒・戦慄なし。左側に1cm大の皮疹あり, RCC輸血再開。 RCC輸血再開5分後 再び悪寒・戦慄あり, BT 37.9°C, BP 134/91, P 89, RCC輸血中止。 RCC輸血中止約40分後 BT 38.0°Cに上昇, アセトアミノフェン内服。 その後も経過観察を行ったが解熱せず入院。 院内にて実施の患者血液培養は陰性。																							
3-1400029	A-1400014	2014/4/25	2014/4/30	照射赤血球濃厚液-LR(人赤血球濃厚液(放射線照射))	女	60	血液疾患	細菌感染	14/04 14/04	BT 36.5°C BP 100/62 PR 94/min SpO2 98% (14/04)						非溶血性副作用関連検査実施予定。 同一採血番号の血液(1本)で細菌培養試験実施予定。	2単位		調査中	調査中	重篤	軽快	
輸血開始2時間後 輸血終了、悪寒なし。輸血終了30分後 BT 36.5°C, BP 96/54, PR 95/min, 輸血終了3時間後 SpO2 90-93%(RA-ネーザル2L/min), PR 100-120/min, BP 低下なし。 輸血終了7時間後 呼吸苦あり, SpO2 84%(ネーザル3L/min)からSpO2 88%(リザーブ10L/minへ変更), 末梢冷感あり, BP 80以下/-, ICU入室、排管、人工呼吸管理開始。心臓超音波検査では心機能低下は明らかではないが、胸膈X線では肺水腫様の両肺透視性低下あり, BT 38.0°Cまで上昇。悪寒、戦慄あり。胸部超音波にて透視性音あり。血液ガス検査にて、pH 7.250, PaO2 61.4, PaCO2 41.7, SpO2 85.7%(O2マス710L/min)。 輸血終了8時間後 血液ガス検査にて、pH 7.319, PaO2 132.7, PaCO2 42.8, SpO2 98.8%(人工呼吸F02.0.7)。 輸血終了10時間後 胸部超音波にて、両側性液陰影あり、心拡大あり(GTR 50.9%-CTR 51.6%)。 輸血終了10時間半後 心エコーにて、IVC 19mm, 呼吸性変動なし, EF 40-50%と低下, MR 2/4。 輸血終了9日後 BT 36.5°C, BP 127/76, PR 72/min, 血液ガス検査にて、pH 7.434, PaO2 79.6, PaCO2 33.8, SpO2 96.5%。 院内にて実施の患者血液培養は陰性。																							

<国内血液分画製剤>

識別番号	FAX受付日	報告受理日	販売名 (一般名)	患者性別	年齢	年代	原疾患	原疾患 (略称)	感染原因	投与年月	投与前 検査(年月)	投与後検査(年月)	患者臨床 確保状況	献血者 DONAT	原料血 源・製品 NAT検査 (実施 製造時検 査の別)	使用血液 製剤名	備考	使用単位 数	ロット 番号	同一製剤 ロット使 用状況	重篤性	転帰
A-13000092	2013/12/17	2013/12/18	コンコエ イトートT (乾燥凍 結人血血 漿因子)	男	50代	50	腎臓因子 欠乏症	血液疾患	C型肝炎								文献からの情報。 現在の製剤による感染症報告はない。 報告医師に自治会等の確認を行ったところ、「病院 での投与であり、かつ数十年前の事象であること から、実施を決定するのは不可能。報告自体も当時の 状況を見ても、詳細調査も不可能である」との 報告を受けた。				重篤	未回復
A-13000094	2013/12/19	2013/12/19	フィブリ ノゲンHT (乾燥人 血フィブ リンゲン)	女	50代前半	50			慢性C型 肝炎							現行製剤ではなく、過去のフィブリノゲン製剤に因す る感染症報告がある。 投与時期は1983年から1992年までの間、その 間と推定される。そのため、使用されたのは非加熱 のフィブリノゲン製剤。これは非加熱のフィ ブリノゲンHT-エドリーと推定される。非加熱のフィ ブリノゲンHT-エドリーは1987年4月に、乾燥加熱のみ のフィブリノゲンHT-エドリーは1984年12月に販売を中止した ので、現在、市場には流通していない。 現行製剤のフィブリノゲンHT新注用「ベネシス」 は、HCVに對する安全対策として、1)原料血漿は プール血漿NAT検査のものを使用している。2)ウ イルス不活化-除去を目的として、50℃で160分のウ イルス除去処理、80℃で12時間の乾燥加熱処理を 施している。3)HCVの生ウイルスとして、BVDVを 用いたウイルスクリアランス試験成績の不利製造 工程のRV値は $2.13 \times 10^6$ である。4)最終製剤の HCV NAT陽性を確認した上で出荷している。そのた め、HCVに對する安全性の高い製剤であると考え ており、1994年12月の発表以来、現行のフィブリノ ゲンHT新注用「ベネシス」が疑われた感染症報告は、 現在まで入っていない。				重篤	不明	



日本赤十字社血液事業本部

試行的 HEV20 プール NAT 実施状況について  
 (輸血後 HEV 感染の予防対策)

北海道ブロック血液センター管内

調査期間:平成 17 年 1 月 1 日～平成 26 年 3 月 31 日

	HEV-RNA 陽性者数 (男:女)	献血者数 (検査総数)	陽性率	年齢平均 ±標準偏差 (範囲)	Genotype G3:G4	抗 HEV 抗体 IgM/IgG
平成 17 年	30 (17:13)	295,444	0.010% (1/9,848)	38.0±12.2 (20～65)	29:1	
平成 18 年	39 (27:12)	273,688	0.014% (1/7,018)	42.9±13.2 (17～68)	36:3	
平成 19 年	31 (28:3)	265,660	0.012% (1/8,570)	41.3±11.0 (19～59)	28:3	
平成 20 年	42 (33:9)	264,193	0.016% (1/6,290)	40.4±10.8 (19～62)	42:0	-/-: 229
平成 21 年	26 (18:8)	275,998	0.009% (1/10,615)	43.4±12.4 (20～65)	22:4	+/-: 3
平成 22 年	28 (24:4)	277,025	0.010% (1/9,894)	43.0±11.4 (25～67)	26:2	+/: 34
平成 23 年	35 (25:10)	279,841	0.013% (1/7,995)	39.1±10.7 (20～60)	30:5	-/: 13
平成 24 年	23 (18:5)	275,923	0.008% (1/11,997)	43.5±10.0 (21～64)	21:2	
平成 25 年	25 (19:6)	276,477	0.009% (1/11,059)	40.5±13.9 (20～66)	25:0	
平成 26 年 1-3 月	7 (6:1)	66,547	0.011% (1/9,507)	40.6±12.3 (22～55)	5:2	-/-: 6 +/-: 0 +/: 0 -/: 1
合計	286 (215:71)	2,550,796	0.011% (1/8,919)	41.2±11.9 (17～68)	264:22	-/-: 235 +/-: 3 +/: 34 -/: 14

註:平成 17 年 1 月～平成 18 年 2 月は、HEV-NAT に ALT 高値、検査不合格検体が含まれているが、平成 18 年 3 月以降は、HEV NAT に ALT 高値、検査不合格検体は含まれていない。

事務連絡  
 平成 26 年 5 月 19 日

日本赤十字社血液事業本部 御中

薬事・食品衛生審議会血液事業部会事務局  
 厚生労働省医薬食品局血液対策課

血液製剤に関する報告事項について

血液事業の推進に御努力いただき、厚く御礼申し上げます。

さて、標記につきましては、平成 26 年 2 月 14 日付け血安第 50 号にて貴社から報告を頂いたところですが、平成 26 年 6 月 25 日に平成 26 年度第 1 回血液事業部会運営委員会を開催することといたしますので、下記の事項について資料を作成いただき、平成 26 年 5 月 28 日(水)までに当事務局あて御提出いただきますようお願いいたします。

なお、資料の作成に当たっては、献血者、患者及び医療機関の名称並びにこれらの所在地又はこれらの事項が特定できる情報を記載しないよう、個人情報及び法人情報の保護に特段の御配慮をお願いします。

記

- 平成 21 年 11 月 20 日付けで報告された輸血用血液製剤で HBV (B 型肝炎ウイルス) 感染が疑われる事例について、残る 2 人の献血者のその後の検査結果。来訪がなければ、その旨。
- 平成 24 年 2 月 8 日付けで報告された輸血用血液製剤で HCV (C 型肝炎ウイルス) 感染が疑われる事例について、残る 2 人の献血者のその後の検査結果。来訪がなければ、その旨。
- 平成 24 年 10 月 15 日付けで報告された輸血用血液製剤で HBV 感染が疑われる事例について、残る 4 人の献血者のその後の検査結果。来訪がなければ、その旨。
- 試行的 HEV 20 プール NAT について、その後の調査実施状況。  
 なお、検査総数、陽性者数、陽性率、年齢、性別、ジェノタイプ、抗 HEV 抗体について、全調査期間での合計に加え、年ごとの結果も含めた表を作成してください。

厚生労働省  
医薬食品局血液対策課長 様

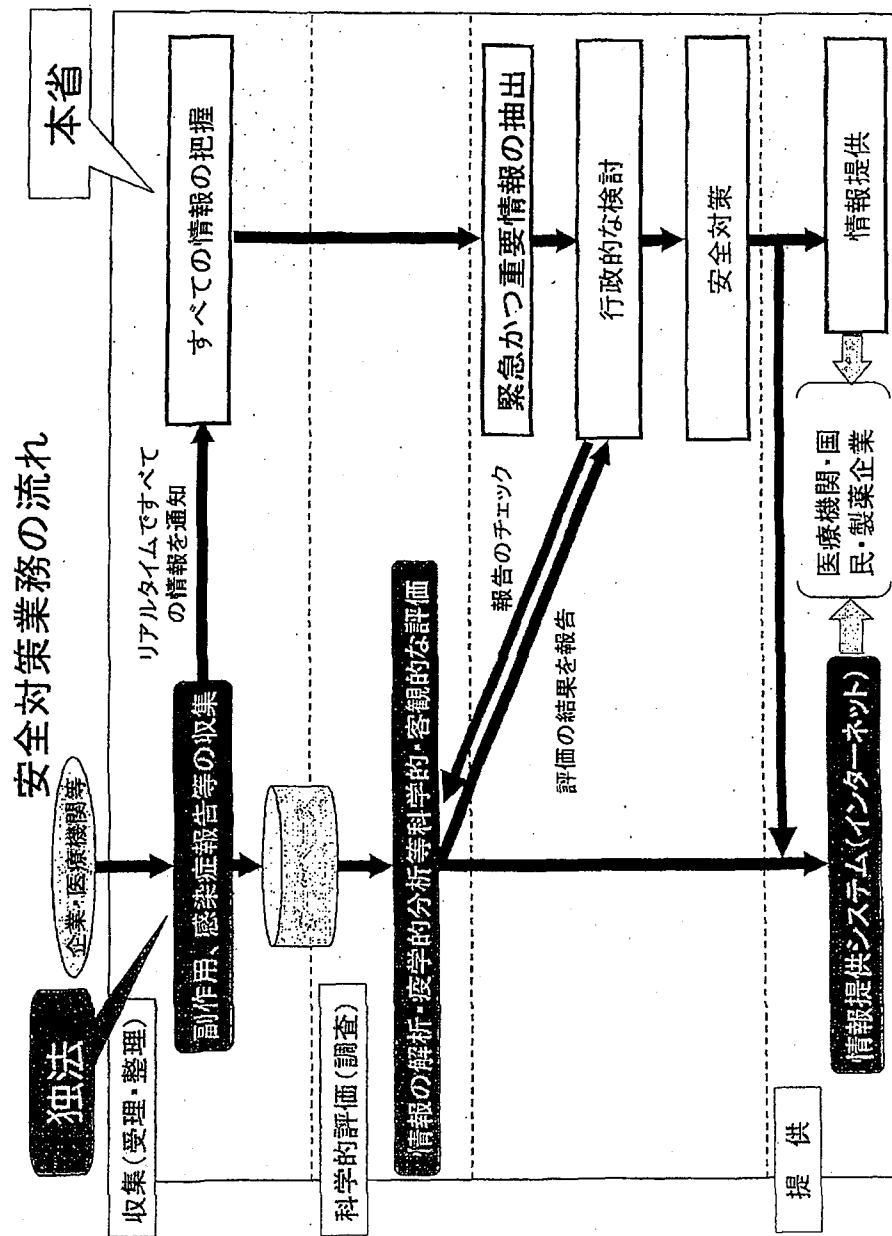
日本赤十字社  
血液事業本部長

血液製剤に関する報告事項について (回答)

平成 26 年 5 月 19 日付事務連絡によりご依頼のありました標記の件について、下記のとおり報告いたします。

記

- 平成 21 年 11 月 20 日付けで報告した輸血用血液製剤で HBV (B 型肝炎ウイルス) 感染が疑われる事例について、供血者 45 人のうち、43 人が来所し HBV 関連検査を実施したが、残る 2 人については依然として来訪なし。
- 平成 24 年 2 月 8 日付けで報告した輸血用血液製剤で HCV (C 型肝炎ウイルス) 感染が疑われる事例について、供血者 11 人のうち、9 人が来所し HCV 関連検査を実施したが、残る 2 人については依然として来訪なし。
- 平成 24 年 10 月 15 日付けで報告した輸血用血液製剤で HBV (B 型肝炎ウイルス) 感染が疑われる事例について、供血者 15 人のうち、前回報告した 2 月 21 日時点で 11 人の HBV 関連検査を実施したが、その後 1 人が献血に来訪し、検査は陰性。残る 3 人は依然来訪なし。
- 試行的 HEV20 プール NAT について、その後の調査実施状況については別紙のとおり。



資料 3-3

年	献血件数 (検査実施数)	陽性件数 ( )内女性 [ ]内核酸増幅検査のみ陽性	10万件 当たり
1987年 (昭和62年)	8,217,340	11 (1)	0.134
1988年 (昭和63年)	7,974,147	9 (1)	0.113
1989年 (平成元年)	7,876,682	13 (1)	0.165
1990年 (平成2年)	7,743,475	26 (6)	0.336
1991年 (平成3年)	8,071,937	29 (4)	0.359
1992年 (平成4年)	7,710,693	34 (7)	0.441
1993年 (平成5年)	7,205,514	35 (5)	0.486
1994年 (平成6年)	6,610,484	36 (5)	0.545
1995年 (平成7年)	6,298,706	46 (9)	0.730
1996年 (平成8年)	6,039,394	46 (5)	0.762
1997年 (平成9年)	5,998,760	54 (5)	0.900
1998年 (平成10年)	6,137,378	56 (4)	0.912
1999年 (平成11年)	6,139,205	64 (6)	1.042
2000年 (平成12年)	5,877,971	67 (4) [3]	1.140
2001年 (平成13年)	5,774,269	79 (1) [1]	1.368
2002年 (平成14年)	5,784,101	82 (5) [2]	1.418
2003年 (平成15年)	5,621,096	87 (8) [2]	1.548
2004年 (平成16年)	5,473,140	92 (4) [2]	1.681
2005年 (平成17年)	5,320,602	78 (3) [2]	1.466
2006年 (平成18年)	4,987,857	87 (5) [1]	1.744
2007年 (平成19年)	4,939,550	102 (3) [6]	2.065
2008年 (平成20年)	5,077,238	107 (3) [0]	2.107
2009年 (平成21年)	5,287,101	102 (6) [2]	1.929
2010年 (平成22年)	5,318,586	86 (3) [1]	1.617
2011年 (平成23年)	5,252,182	89 (8) [3]	1.695
2012年 (平成24年)	5,271,103	68 (6) [1]	1.290
2013年 (平成25年) (1~12月)	5,205,819	63 (2) [1]	1.210
2014年 (平成26年) (1~3月)	1,254,924 (速報値)	20 (1)	1.594

HIV抗体・核酸増幅検査陽性献血者数内訳

1. 性別・年齢区分・国別

	男性			女性			合計		
	日本人	外国人	計	日本人	外国人	計	日本人	外国人	計
16~19歳	40	1	41	12	0	12	52	1	53
20~29歳	590	32	622	52	4	56	642	36	678
30~39歳	562	14	576	28	2	30	590	16	606
40~49歳	223	1	224	13	1	14	236	2	238
50~69歳	95	0	95	9	0	9	104	0	104
合計	1510	48	1558	114	7	121	1624	55	1679

※ 昭和61年~平成26年3月(昭和61年については年途中から集計)

(注1)・昭和61年は、年途中から実施したことなどから、3,146,940件、うち、陽性件数11件(女性0)となっている。  
 (注2)・抗体検査及び核酸増幅検査陽性の血液は廃棄され、製剤には使用されない。  
 ・核酸増幅検査については、平成11年10月より全国的に実施している。  
 (注3)・平成26年は、1月~3月の速報値で集計している。

2. 都道府県別（献血地別）

県別	年																												合計	構成割合	ブロック別									
	61年	62年	63年	元	2年	3年	4年	5年	6年	7年	8年	9年	10年	11年	12年	13年	14年	15年	16年	17年	18年	19年	20年	21年	22年	23年	24年	25年			26年									
1.北海道	1																													42	2.5	北海道 東北	95	5.7						
2.青森	2																														13				0.8					
3.岩手																																			7	0.4				
4.宮城																																				14	0.8			
5.秋田																																				4	0.2			
6.山形																																				4	0.2			
7.福島																																					11	0.7		
8.茨城																																					29	1.7		
9.栃木																																						28	1.7	
10.群馬																																						22	1.3	
11.埼玉																																			63	3.8				
12.千葉																																			95	5.7				
13.東京都	10	6	4	10	10	11	12	11	14	21	18	16	19	27	26	29	23	25	24	22	24	17	21	19	25	16	23	16	4	507	30.2	関東 中部 甲信越	828	49.9						
14.神奈川県	1																																				84	5.6		
15.新潟																																						12	0.7	
16.富山																																						6	0.4	
17.石川																																						7	0.4	
18.福井																																						5	0.3	
19.山梨																																						4	0.2	
20.長野																																							10	0.6
21.岐阜																																							9	0.5
22.静岡																																							21	1.3
23.愛知																																				70	4.2			
24.三重																																				9	0.5			
25.滋賀																																				7	0.4			
26.京都																																				32	1.8			
27.大阪	1	1	1	1	3	1	4	2	1	8	14	6	8	10	10	15	17	19	17	26	13	16	16	7	6	4	255	15.2	近畿	360	21.4									
28.兵庫																																						45	2.7	
29.奈良																																							15	0.8
30.和歌山																																							6	0.4
31.鳥取																																							5	0.3
32.徳島																																							6	0.4
33.岡山																																							16	1.0
34.広島																																							26	1.5
35.山口																																							6	0.4
36.徳島																																							7	0.4
37.香川																																				9	0.5			
38.愛媛																																				18	1.1			
39.高知																																				7	0.4			
40.福岡																																				47	2.8			
41.佐賀																																				2	0.1			
42.長門																																				8	0.5			
43.熊本																																				23	1.4			
44.大分																																				5	0.3			
45.宮崎																																				9	0.5			
46.鹿児島																																				15	0.9			
47.沖縄																																				24	1.4			
合計	11	11	9	13	28	29	34	35	36	46	46	54	56	64	67	78	82	87	92	78	87	102	107	102	86	89	69	63	20	1678	100	1678	100							

※ 「構成割合」は掲載処理しているため、合計が必ずしも100%にはならない  
 ※ 平成26年については、1月～3月の速報値で集計

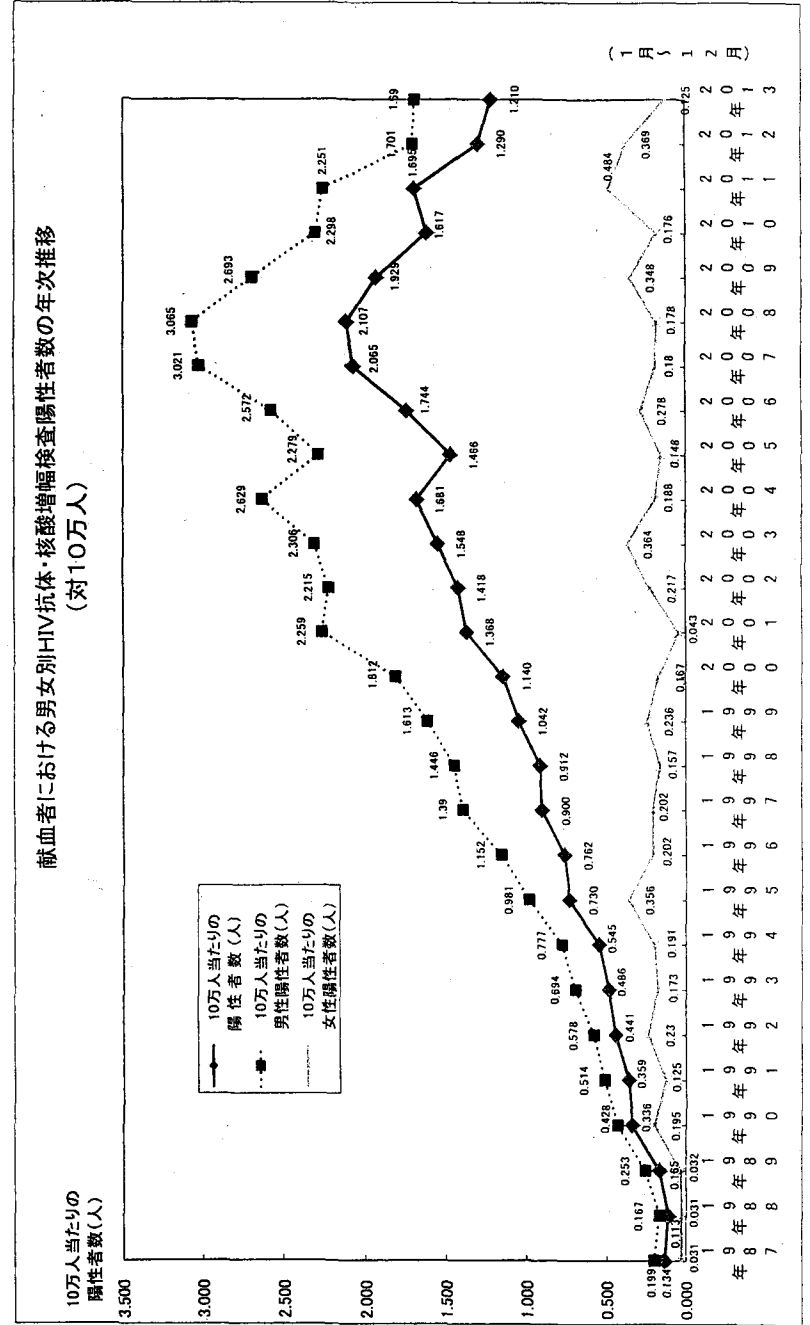
ブロック別 HIV 抗体・核酸増幅検査陽性献血者

	平成22年			平成23年			平成24年			平成25年			平成26年 (1月～3月)(速報値)		
	献血者	陽性	10万人 当たり	献血者	陽性	10万人 当たり	献血者	陽性	10万人 当たり	献血者	陽性	10万人 当たり	献血者	陽性	10万人 当たり
北海道 ・東北	690,050	7	1.014	645,896	5	0.774	675,676	3	0.444	680,150	1	0.147	159,541	1	0.627
関東	1,698,561	38	2.237	1,649,186	36	2.183	1,685,544	40	2.373	1,659,337	28	1.687	399,243	7	1.753
北陸・ 甲信越	340,203	0	0.000	349,241	0	0.000	340,542	3	0.881	340,706	1	0.294	80,947	0	0.000
東海	589,557	4	0.678	586,872	7	1.193	575,228	2	0.348	569,738	6	1.053	136,826	3	2.193
近畿	876,750	22	2.509	873,048	23	2.634	869,738	10	1.150	859,971	12	1.395	210,069	6	2.856
中国	330,284	5	1.514	324,416	3	0.925	323,135	1	0.309	320,354	3	0.936	77,662	1	1.288
四国	176,923	2	1.130	176,841	3	1.696	166,492	0	0.000	157,492	2	1.270	38,480	0	0.000
九州 ・沖縄	616,258	8	1.298	646,682	12	1.856	634,748	9	1.418	618,071	10	1.618	152,156	2	1.314
合計	5,318,586	86	1.617	5,252,182	89	1.695	5,271,103	68	1.290	5,205,819	63	1.210	1,254,924	20	1.594

年齢別HIV抗体・核酸増幅検査陽性献血者

	平成21年		平成22年		平成23年		平成24年		平成25年 (1月～12月) (確定値)	
	献血者 人	陽性 件 10万 人 当たり	献血者 人	陽性 件 10万 人 当たり	献血者 人	陽性 件 10万 人 当たり	献血者 人	陽性 件 10万 人 当たり	献血者 人	陽性 件 10万 人 当たり
16才～ 19才	295,811	3.1014	292,853	5.1707	286,534	2.0698	295,683 (1)	4.1353	308,178	0.000
20才～ 29才	1,139,991	37.3246 (1)	1,080,385	21.1944 (1)	1,037,257	41.3953 (4)	1,000,086 (3)	20.2000	962,418	25.2598
30才～ 39才	1,414,747	42.2969 (3)	1,376,596	43.3124 (1)	1,317,138	31.2354 (2)	1,243,040 (1)	23.1850	1,150,688	19.1651 (1)
40才～ 49才	1,272,397	17.1336 (2)	1,350,490	10.0740	1,379,078	8.0580 (1)	1,442,101	14.0971	1,455,100	16.1100
50才～ 59才	841,168	3.0357	872,113	6.0688 (1)	878,562	6.0683 (1)	926,865 (1)	6.0647	959,551	3.0313 (1)
60才～	322,987	0.0000	346,149	1.0289	353,613	1.0283	363,328	1.0275	369,884	0.0000
合計	5,287,101	102.1929 (6)	5,318,586	86.1617 (3)	5,252,182	89.1695 (8)	5,271,103 (6)	68.1290	5,205,819	63.1210 (2)

(注)陽性件数の()内女性



「献血血液の研究開発等での使用に関する指針」  
の改正等について

厚生労働省医薬食品局血液対策課

【背景】

- 平成 24 年度より、「献血血液の研究開発等での使用に関する指針」（以下、「指針」という）に基づいて、研究開発等で献血血液の使用を希望する者の公募を行ってきた。
- 応募課題については、指針に基づき、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「運営委員会」という。）において、血液を活用することの妥当性等について事前評価を行ってきた。
- 平成 25 年度第 6 回運営委員会にて、委員から「指針」の見直しが必要ではないかとの指摘があり、今般、次回の公募に向けて指針の必要な改正等を行う。

【指摘された指針の問題点の一覧】

問題点 1：インフォームド・コンセントの規定が不明瞭な部分や、他の指針より厳格すぎる部分がある

問題点 1-1：包括同意の取得の可不可が不明瞭である

問題点 1-2：他の倫理指針より不必要に厳格な部分がある

問題点 2：指針の対象範囲に、市場に流通している血液製剤が含まれるか否かが不明瞭である

問題点 1：インフォームド・コンセントの規定が不明瞭な部分や、他の指針より厳格すぎる部分がある

<委員のご意見>

- 今後も個別の同意をとっていく場合、献血者にかかなり大きな負担を課することや、同意が困難なため研究が困難とされた場合、折角のシステムが有効に働かないと感じる。
- 関連する指針の検討状況に照らすと個別の同意が必要ないと思われる。

問題点 1-1：包括同意の取得の可不可が不明瞭である

指針第 3 の 1 「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。」とあるが、説明文書に個別具体的な内容を含めるのか、包括同意でよいのかが不明瞭である。

問題点 1-2：他の倫理指針より不必要に厳格な部分がある

指針第 3 の 3 「ヒト遺伝子解析・検査等について」の内容について、「ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針」の遵守に加え、「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」ことを課している。

(対応案)

問題点 1-1：以下解釈を QA に追加する。なお、次年度以降においては、献血者に対し各研究の個別の使用目的等に関する情報公開を日本赤十字社にて行う予定。

Q. 本指針の第 3 の「1 インフォームド・コンセントについて」の中における記載「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。」とありますが、包括同意の他に、個別の研究の使用目的等について文書により説明を行う必要はあるのでしょうか？

A. 本記載は、「献血血液が研究開発等へ使用される可能性があること」について献血者に対して説明を行い、同意を得よう示したものです。その際、個別の使用目的等に関する情報を公開する場合等においては、同意説明文章中に個別の研究の使用目的等の内容を含める必要はありません。

問題点 1-2：「ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針」と同じ基準となるよう記載を以下の通り整備する。

<指針第 3 の 3 「ヒト遺伝子解析・検査等について」>

(前略) 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おいては、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。

【参考】「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」より抜粋

15 外部の機関の既存試料・情報の利用

(1) (略)

(2) 既存試料・情報の提供を行う者は、他の研究を行う機関にヒトゲノム・遺伝子解析研究に用いるために既存試料・情報を提供する場合には、提供時までに提供者又は代話者等から試料・情報の提供及び該研究における利用に係る同意を受け、並びに当該同意に関する記録を作成することを原則とする。ただし、当該同意を受けることができない場合には、次のいずれかに該当するときに限り、既存試料・情報を他の研究を行う機関に提供することができる。

ア当該既存試料・情報が連結不可能匿名化されていること。

イ当該既存試料・情報がアに該当しない場合において、当該既存試料・情報が連結可能匿名化されており対応表を提供しないときは、当該ヒトゲノム・遺伝子解析研究の実施及び提供について既存試料・情報の利用目的を含む情報を提供者等に通知し、又は公開していることについて倫理審査委員会の承認を得て、所属機関の長の許可を受けていること。

問題点2：公募の対象範囲に、市場に流通している血液製剤が含まれるか否かが不明瞭である

<委員のご意見>

○研究者が購入可能な最終製品は、指針に基づく公募による提供である必要はない。

○市場での入手が困難な製剤（例：製造量が少ないフィブリノゲン製剤）もあり、全ての最終製品を指針に基づく公募で扱わないとする場合も問題あり。

(対応案)

研究者が購入可能な血漿分画製剤（最終製品）の提供は、原則的に指針に基づく公募の対象としないことを以下のQA案のとおり明確化。

Q. 市場に流通している血漿分画製剤は、公募の対象になりますか？

A. 市場に流通している血漿分画製剤について、研究者が購入可能な場合には、原則的に、公募の対象とはしていません。なお、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りません。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しております。

公募の対象範囲のほか、提供血液の使用目的に関して、営利企業が市販製品の品質管理に使用する場合、安全性の研究に使用するための血液が不足するのではないか、という意見あり。

しかし、検査薬の精度管理等、市販の製品の品質管理も広く国民の公衆衛生の向上にとって重要であることから、当面は指針の当該部分の変更を行わないこととした。なお、申請課題の使用血液量の合計が、提供可能な量の範囲を超える場合は、研究成果の血液事業における発展への寄与等について評価点数による事前評価が行われる。

※現状指針第2の1では「広く国民の公衆衛生の向上を目的とした使用」の例として「品質管理試験」「検査試験」「医薬品製造」等が明示され、また、指針制定前より日赤から体外診断薬メーカーへの献血血液の提供は行われてきている実態がある。

【その他】申請書等の修正：「使用する献血血液の種類と量」の内容をわかりやすくなるよう修正する。

# 変更点確認用

下線部が変更点。

## 現行

### 献血の同意説明書

献血にご協力いただき、ありがとうございます。  
1~4の事項をご確認いただき、献血受付へお進みください。  
また、一緒にお渡しした「お願い！」パンフレットも併せてお読みください。

#### 1. 献血に伴う副作用について

- ① 気分不良、吐き気、めまい、失神などが0.9%（約1/100人）、失神に伴う転倒が0.008%（1/12500人）の頻度で発生します。
- ② 針を刺すことによる皮下出血が0.2%（1/500人）、神経損傷（痛み、しびれ、筋力低下など）が0.01%（1/10000人）の頻度で発生します。  
（医療機関の受診を伴う副作用は、「献血者健康被害救済制度」が適用されます。）

#### 2. 個人情報の取扱いについて

- ① 個人情報や検査結果等は血液センターにおいて厳重に管理されます。
- ② 検査の結果、献血いただけませんが、申告いただいた個人情報は、医師法、薬事法などの定めにより削除できません。

#### 3. 血液の検査等について

- ① いただいた血液の一部を用いて、次の検査を行います。  
血液型（ABO型、Rh型、HLA遺伝子型等）、不規則抗体、梅毒、B型肝炎ウイルス、C型肝炎ウイルス、エイズウイルス（HIV）、ヒト細胞白血球ウイルス-1型（HTLV-1）、ヒトウイルスB19、ALT（肝機能）等
- ② 血液型や輸血副作用の検査・解析のため、赤血球型、白血球型、血小板型及び血漿蛋白の遺伝子検査を行うことがあります。
- ③ 血液製剤の品質管理や輸血用の検査試薬の製造に使用することがあります。

#### 4. 血液の有効利用について

- ① いただいた血液は以下の研究開発等に使用することがあります。
- ② 血液製剤の有効性・安全性の向上及び検査法の向上を目的とした使用
- ③ 病気の診断・治療や国民の健康状態の改善を目的とした使用



## 変更案

### 献血の同意説明書(案)

献血にご協力いただき、ありがとうございます。  
1~4の事項をご確認いただき、献血受付へお進みください。  
また、一緒にお渡しした「お願い！」パンフレットも併せてお読みください。

#### 1. 献血に伴う副作用について

- ① 気分不良、吐き気、めまい、失神などが0.9%（約1/100人）、失神に伴う転倒が0.008%（1/12500人）の頻度で発生します。
- ② 針を刺すことによる皮下出血が0.2%（1/500人）、神経損傷（痛み、しびれ、筋力低下など）が0.01%（1/10000人）の頻度で発生します。  
（医療機関の受診を伴う副作用は、「献血者健康被害救済制度」が適用されます。）

#### 2. 個人情報の取扱いについて

- ① 個人情報や検査結果等は血液センターにおいて厳重に管理されます。
- ② 検査の結果、献血いただけませんが、申告いただいた個人情報は、医師法、薬事法などの定めにより削除できません。

#### 3. 血液の検査等について

- ① いただいた血液の一部を用いて、次の検査を行います。  
血液型（ABO型、Rh型、HLA遺伝子型等）、不規則抗体、梅毒、B型肝炎ウイルス、C型肝炎ウイルス、エイズウイルス（HIV）、ヒト細胞白血球ウイルス-1型（HTLV-1）、ヒトウイルスB19、ALT（肝機能）等
- ② 血液型や輸血副作用の検査・解析のため、赤血球型、白血球型、血小板型及び血漿蛋白の遺伝子検査を行うことがあります。
- ③ 血液製剤の品質管理や輸血用の検査試薬の製造に使用することがあります。

#### 4. 血液の有効利用について

- ① いただいた血液は以下の研究開発等に使用することがあります。
- ② 血液製剤の有効性・安全性の向上及び検査法の向上を目的とした使用  
（血液事業の研究において血液型遺伝子を調べることがあります。）
- ③ 病気の診断・治療や国民の健康状態の改善を目的とした使用

詳しい研究項目等は添付資料裏面をご覧ください。



## 献血の同意説明書(案)

献血にご協力いただき、ありがとうございます。  
1~4の事項をご確認いただき、献血受付へお進みください。  
また、一緒にお渡しした「お願い！」パンフレットも併せてお読みください。

#### 1. 献血に伴う副作用について

- ① 気分不良、吐き気、めまい、失神などが0.9%（約1/100人）、失神に伴う転倒が0.008%（1/12500人）の頻度で発生します。
- ② 針を刺すことによる皮下出血が0.2%（1/500人）、神経損傷（痛み、しびれ、筋力低下など）が0.01%（1/10000人）の頻度で発生します。  
（医療機関の受診を伴う副作用は、「献血者健康被害救済制度」が適用されます。）

#### 2. 個人情報の取扱いについて

- ① 個人情報や検査結果等は血液センターにおいて厳重に管理されます。
- ② 検査の結果、献血いただけませんが、申告いただいた個人情報は、医師法、薬事法などの定めにより削除できません。

#### 3. 血液の検査等について

- ① いただいた血液の一部を用いて、次の検査を行います。  
血液型（ABO型、Rh型、HLA遺伝子型等）、不規則抗体、梅毒、B型肝炎ウイルス、C型肝炎ウイルス、エイズウイルス（HIV）、ヒト細胞白血球ウイルス-1型（HTLV-1）、ヒトウイルスB19、ALT（肝機能）等
- ② 血液型や輸血副作用の検査・解析のため、赤血球型、白血球型、血小板型及び血漿蛋白の遺伝子検査を行うことがあります。
- ③ 血液製剤の品質管理や輸血用の検査試薬の製造に使用することがあります。

#### 4. 血液の有効利用について

- ① いただいた血液は以下の研究開発等に使用することがあります。
  - ② 血液製剤の有効性・安全性の向上及び検査法の向上を目的とした使用  
（血液事業の研究において血液型遺伝子を調べることがあります。）
  - ③ 病気の診断・治療や国民の健康状態の改善を目的とした使用
- 詳しい研究項目等は添付資料裏面をご覧ください。





## 4. 血液の有効利用について

## 添付資料

病気の診断・治療や国民の健康状態の改善を目的とした  
献血血液を使用する研究課題

## 1. はじめに

献血血液(検査用検体の残りや有効期限切れの製剤など)を研究に使用することで、  
①血液製剤の有効性・安全性の向上及び検査法の向上のほかに、②病気の診断・治療  
法の開発が促進され国民の健康状態の改善などに役立つ可能性があります。  
そのため、献血血液を研究に使用することへのご理解をお願いしています。

## 2. 対象となる研究について

①血液製剤の有効性・安全性の向上及び検査法の向上を目的とした研究のほかに、  
②病気の診断・治療や国民の健康状態の改善(広く国民の公衆衛生の向上)を目的と  
して行われる研究で、かつ献血血液を使用しないと実施が難しい研究が対象です。さ  
らに外部の研究機関などから「献血血液の研究開発等での使用に関する指針」に基づ  
き申請され、厚生労働省の委員会で承認された研究に限られます。また、いずれの研  
究でも献血血液は氏名や住所など個人を特定できる情報と切り離して使用されます。  
②の研究は、①に比べて広範囲で多岐に亘るため、その対象となる研究課題を裏  
面に記載しました。  
なお、研究の内容により遺伝子を解析することがあります。

## 3. あなたの利益・不利益について

研究に使用する献血血液は、上記2のように、氏名や住所など個人を特定できる情  
報と切り離して使用するため、あなたに不利益はありません。また、個人的に受ける  
利益もありません。

## 4. 同意と撤回について

献血血液を研究に使用することは、あなたの自由意思による同意に基づきます。同  
意をしないからといってあなたの不利益になることはありません。  
また、同意は、献血血液が研究に使用される前であれば撤回することができます。  
ただし、早ければ、採血翌日に使用される場合があります。

## 臨床研究、疫学研究

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.
- 6.
- 7.
- 8.
- 9.
- 10.

## ヒトゲノム・遺伝子解析研究

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.
- 6.
- 7.
- 8.
- 9.
- 10.

同意の撤回を希望する場合は、受付の職員にお申し出いただくか、下記の連絡先まで  
お電話をお願いします。

電話番号

無料 0120-0000-0000

この電話は24時間対応の受信専用録音電話です。

採血番号と生年月日をあなたの声でお知らせください。

※採血番号については、献血時にお渡しするチラシ(右写真)の  
枠内に記載しております。

※一度、ご確認ください！

献血血液の有効利用に関する研究課題

①血液製剤の有効性・安全性の向上及び検査法の向上のほかに、②病気の診断・治療法の開発が促進され国民の健康状態の改善などに役立つ可能性があります。

そのため、献血血液を研究に使用することへのご理解をお願いしています。

①血液製剤の有効性・安全性の向上及び検査法の向上を目的とした研究のほかに、②病気の診断・治療や国民の健康状態の改善(広く国民の公衆衛生の向上)を目的として行われる研究で、かつ献血血液を使用しないと実施が難しい研究が対象です。

さらに外部の研究機関などから「献血血液の研究開発等での使用に関する指針」に基づき申請され、厚生労働省の委員会で承認された研究に限られます。

また、いずれの研究でも献血血液は氏名や住所など個人を特定できる情報と切り離して使用されます。

②の研究は、①に比べて広範囲で多岐に亘るため、その対象となる研究課題を裏面に記載しました。

なお、研究の内容により遺伝子を解析することがあります。

研究に使用する献血血液は、上記2のように、氏名や住所など個人を特定できる情報と切り離して使用するため、あなたに不利益はありません。

また、同意は、献血血液が研究に使用される前であれば撤回することができます。

ただし、早ければ、採血翌日に使用される場合があります。

同意の撤回を希望する場合は、受付の職員にお申し出いただくか、下記の連絡先までお電話をお願いします。

電話番号

無料 0120-0000-0000

この電話は24時間対応の受信専用録音電話です。

採血番号と生年月日をあなたの声でお知らせください。

※採血番号については、献血時にお渡しするチラシ(右写真)の枠内に記載しております。

研究の内容をお知りになりたい方は下記ホームページでご確認いただくか、受付の職員  
にお申し出ください。

<http://www.jrc.or.jp/>

(案)

研究内容の説明文

資料 4-2 ④

研究課題名：○○○○○○○○○○○○○○○○○○

研究責任者所属と職名：(組織名から)

研究責任者氏名：○○○○

研究の説明

(本研究の意義・目的・方法《献血血液の使用法含む》・予測される当該研究の結果・血液の廃棄と保管等を献血者に分かるように記載。)

献血の同意説明書

資料 4-2 ⑤  
(現行版)

献血にご協力いただき、ありがとうございます。  
1~4の事項をご確認いただき、献血受付へお進みください。  
また、一緒にお渡しした「お願い!」パンフレットも併せてお読みください。

1. 献血に伴う副作用について

- ① 気分不良、吐き気、めまい、失神などが0.9%(約1/100人)、失神に伴う転倒が0.008%(1/12,500人)の頻度で発生します。
- ② 針を刺すことによる皮下出血が0.2%(1/500人)、神経損傷(痛み、しびれ、筋力低下など)が0.01%(1/10,000人)の頻度で発生します。

(医療機関の受診を伴う副作用は「献血者健康被害救済制度」が適用されます。)

2. 個人情報の取扱いについて

- ① 個人情報や検査結果等は血液センターにおいて厳重に管理されます。
- ② 検診の結果、献血いただけないことがあります。申告いただいた個人情報は、医師法、薬事法などの定めにより削除できません。

3. 血液の検査等について

- ① いただいた血液の一部を用いて、次の検査を行います。  
血液型(ABO型、Rh型、HLA遺伝子型等)、不規則抗体、梅毒、B型肝炎ウイルス、C型肝炎ウイルス、エイズウイルス(HIV)、ヒトT細胞白血病ウイルス-1型(HTLV-1)、ヒトバロウイルスB19、ALT(肝機能)等
- ② 血液型や輸血副作用の検査・解析のため、赤血球型、白血球型、血小板型及び血漿蛋白の遺伝子検査を行うことがあります。
- ③ 血液製剤の品質管理や輸血用の検査試薬の製造に使用することがあります。

4. 血液の有効利用について

いただいた血液は以下の研究開発等に使用することがあります。

- ① 血液製剤の有効性・安全性の向上及び検査法の向上を目的とした使用
- ② 病気の診断・治療や国民の健康状態の改善を目的とした使用

本研究に関する問い合わせ先

○○大学○○学部○○研究室 ○○

電話：

Mail：

本書は日本赤十字社ホームページで公開され、必要に応じ献血者への説明資料として使用されます。

申請書 (様式1)

変更 (案) 変更箇所は赤字	現行版												
<p>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</p> <p style="text-align: right;">平成〇〇年〇〇月〇〇日提出</p> <p>採血事業者 製造販売業者 御中</p> <p style="text-align: right;">研究責任者 氏名 印 所属 職名</p>	<p>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</p> <p style="text-align: right;">平成〇〇年〇〇月〇〇日提出</p> <p>採血事業者 製造販売業者 御中</p> <p style="text-align: right;">研究責任者 氏名 印 所属 職名</p>												
<table border="1" style="width:100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width:15%;">研究開発等課題名 (研究開発等期間)</td> <td>課題: (平成〇〇年〇〇月~平成〇〇年〇〇月)</td> </tr> <tr> <td>担当者連絡先</td> <td>氏名: 所属・職: 住所: 〒 電話: e-mail:</td> </tr> <tr> <td>献血血液の使用目的</td> <td><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</td> </tr> </table>	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)	担当者連絡先	氏名: 所属・職: 住所: 〒 電話: e-mail:	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	<table border="1" style="width:100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width:15%;">研究開発等課題名 (研究開発等期間)</td> <td>課題: (平成〇〇年〇〇月~平成〇〇年〇〇月)</td> </tr> <tr> <td>担当者連絡先</td> <td>氏名: 所属・職: 住所: 電話: e-mail:</td> </tr> <tr> <td>献血血液の使用目的</td> <td><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</td> </tr> </table>	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)	担当者連絡先	氏名: 所属・職: 住所: 電話: e-mail:	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
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)												
担当者連絡先	氏名: 所属・職: 住所: 〒 電話: e-mail:												
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												
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)												
担当者連絡先	氏名: 所属・職: 住所: 電話: e-mail:												
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												

1

<p>研究等の種類</p> <p><input type="checkbox"/>①研究及び疫学調査等</p> <ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/>疫学研究に関する倫理指針に該当</li> <li><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</li> <li><input type="checkbox"/>臨床研究に関する倫理指針に該当</li> </ul> <p><input type="checkbox"/>②品質管理試験・検査試薬</p> <p><input type="checkbox"/>③試薬製造</p> <p><input type="checkbox"/>④教育目的</p> <p><input type="checkbox"/>⑤その他 (具体的に: )</p>	<p>研究等の種類</p> <p><input type="checkbox"/>①研究及び疫学調査等</p> <ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/>疫学研究に関する倫理指針に該当</li> <li><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</li> <li><input type="checkbox"/>臨床研究に関する倫理指針に該当</li> </ul> <p><input type="checkbox"/>②品質管理試験・検査試薬として使用</p> <p><input type="checkbox"/>③試薬製造</p> <p><input type="checkbox"/>④教育目的</p> <p><input type="checkbox"/>⑤その他 (具体的に: )</p>
<p>(記載位置を変更)</p>	<p>共同研究施設の 有無</p> <p><input type="checkbox"/>有 (具体的に: ) <input type="checkbox"/>無</p>
<p>献血血液の使用 区分</p> <p><input type="checkbox"/>①献血者の個々の血液を解析対象とした研究での使用 ※研究の内容を日本赤十字社ホームページで公開するための「研究内容の説明文」を作成し添付すること</p> <p><input type="checkbox"/>②教育機関、学会等における教育目的の実習や認定試験等での使用</p> <p><input type="checkbox"/>③標準血球、コントロール血清等の日常検査や精度管理等における検査試薬としての使用</p> <p><input type="checkbox"/>④すでに製造方法、使用方法が確立している検査試薬、医薬品の原料としての使用</p> <p><input type="checkbox"/>⑤譲渡した血液を希釈液や培地等の材料として使用</p>	<p>献血血液の使用 区分</p> <p><input type="checkbox"/>①譲渡した血液の固有の機能を対象とした研究での使用</p> <p><input type="checkbox"/>②教育機関、学会等における教育目的の実習での使用</p> <p><input type="checkbox"/>③標準血球、コントロール血清等の日常検査における検査試薬としての使用</p> <p><input type="checkbox"/>④すでに製造方法、使用方法が確立している検査試薬、医薬品の原料としての使用</p> <p><input type="checkbox"/>⑤譲渡した血液を培地等の材料として使用</p>

	<input type="checkbox"/> ⑥その他の使用 (具体的に: )		<input type="checkbox"/> ⑥その他の使用 (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		
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面分) <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面分) <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総量 (採血日翌日以降の提供) <input type="checkbox"/> 全血 (1 バッグあたり 300mL 程度) _____ バッグ <input type="checkbox"/> 赤血球 (1 バッグあたり約 280mL) _____ バッグ	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総量 <input type="checkbox"/> 全血 _____ mL 又は _____ L 又は _____ バッグ <input type="checkbox"/> 赤血球 _____ mL 又は _____ L 又は _____ バッグ

<input type="checkbox"/> 血漿 (1 バッグあたり約 240mL) _____ バッグ <input type="checkbox"/> 血小板 (1 バッグあたり毛に約 200mL(10 単位)) _____ バッグ <input type="checkbox"/> セグメント _____ 本 <input type="checkbox"/> その他 (具体的に: )	<input type="checkbox"/> 血漿 _____ mL 又は _____ L 又は _____ バッグ <input type="checkbox"/> 血小板 _____ mL 又は _____ 単位 <input type="checkbox"/> セグメント _____ 本 <input type="checkbox"/> その他 (具体的に: )
必要条件等: 例: 期限切れ血液	必要条件等: 例: 期限切れ血液
<input type="checkbox"/> 使用する献血血液の区分が②の場合は、その種類と総量 (採血日翌日以降の提供) <input type="checkbox"/> 検査残余血液 (全血): EDTA 採血 (1 本あたり約 5mL) _____ 本 <input type="checkbox"/> 検査残余血液 (血清) (1 本あたり約 1.5mL) _____ 本 <input type="checkbox"/> 検査残余血液 (血漿): EDTA 採血 (1 本あたり 20 人分をプールし約 5mL) _____ 本 <input type="checkbox"/> 白血球除去工程後のフィルター (全血 200mL 又は 400	<input type="checkbox"/> 使用する献血血液の区分が②の場合は、その種類と総量 <input type="checkbox"/> 検査残余血液 (全血: 1 本あたり約 5mL) _____ 本 又は _____ mL <input type="checkbox"/> 検査残余血液 (血清: 1 本あたり約 1.5mL) _____ 本 又は _____ mL <input type="checkbox"/> 検査残余血液 (血漿: 1 本あたり 20 人分をプールし約 5mL) _____ 本 又は _____ mL <input type="checkbox"/> 白血球除去の際に生じたフィルター内残余血液

	<p>mL 由来の白血球がトランプされた状態の _____個</p> <p><input type="checkbox"/> その他（具体的に： _____ )</p> <p>必要条件等： 例：プール願います。</p>		<p>_____個</p> <p><input type="checkbox"/> その他（具体的に： _____ )</p> <p>必要条件等： 例：バッグにプール願います。</p>
使用者の区分	<p><input type="checkbox"/> 採血事業者又は血液製剤製造販売業者</p> <p><input type="checkbox"/> 上記以外の営利を目的とした者</p> <p><input type="checkbox"/> その他（具体的に：例 大学研究機関等 _____ )</p>	使用者の区分	<p><input type="checkbox"/> 採血事業者又は血液製剤製造販売業者</p> <p><input type="checkbox"/> 上記以外の営利を目的とした者</p> <p><input type="checkbox"/> その他（具体的に：例 大学研究機関等 _____ )</p>
使用者が適切に使用できる体制	<p><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)</p> <p><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。</p> <p><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。 (該当しない場合は理由を記載： _____ )</p> <p><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。 (該当しない場合は理由を記載： _____ )</p>	使用者が適切に使用できる体制	<p><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)</p> <p><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。</p> <p><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。 (該当しない場合は理由を記載： _____ )</p> <p><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。 (該当しない場合は理由を記載： _____ )</p>

	<p><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)</p> <p>(該当しない場合は理由を記載： _____ )</p> <p><input type="checkbox"/> 施設長からの許可が出ている。</p>		<p><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)</p> <p>(該当しない場合は理由を記載： _____ )</p> <p><input type="checkbox"/> 施設長からの許可が出ている。</p>
<p><input type="checkbox"/> 申請書の開示：可</p> <p><input type="checkbox"/> 申請書の開示：部分的に可 (その内容&lt;詳細に記載 &gt;： _____ )</p> <p><input type="checkbox"/> 申請書の開示：不可</p>		<p><input type="checkbox"/> 申請書の開示：可</p> <p><input type="checkbox"/> 申請書の開示：部分的に可 (その内容&lt;詳細に記載 &gt;： _____ )</p> <p><input type="checkbox"/> 申請書の開示：不可</p>	
<p>申請書の開示が不可の時、その理由：</p> <p><input type="checkbox"/> 研究参加者の人権に支障が生じる可能性がある。</p> <p><input type="checkbox"/> 研究の独創性に支障が生じる可能性がある。</p> <p><input type="checkbox"/> 知的財産権の保護に支障が生じる可能性がある。</p> <p><input type="checkbox"/> その他（詳細に記載： _____ )</p>		<p>申請書の開示が不可の時、その理由：</p> <p><input type="checkbox"/> 研究参加者の人権に支障が生じる可能性がある。</p> <p><input type="checkbox"/> 研究の独創性に支障が生じる可能性がある。</p> <p><input type="checkbox"/> 知的財産権の保護に支障が生じる可能性がある。</p> <p><input type="checkbox"/> その他（詳細に記載： _____ )</p>	
<p>研究内容の概要（献血血液の使い方が分かるよう150字以上200字以内で記載）</p>		<p>研究内容の概要（献血血液の使い方が分かるよう150字以上200字以内で記載）</p>	



献血血液の研究開発等での使用に関する指針  
(改正案)

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画分
- 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てる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、その向上への不断の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白しょう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おいては、「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3③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当と思料される場合。

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に、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、適切にされていないといけない。

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いといけない。

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しうる影響に鑑みると、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つては、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

(新旧対照表)

改正案	現行
<p>第3 献血者への対応</p> <p>(略)</p> <p>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白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、「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。</p>	<p>第3 献血者への対応</p> <p>(略)</p> <p>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白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。</p>

## 献血血液の研究開発等での使用に関する指針 Q &amp; A (改正案)

## &lt;目的・対象&gt;

Q 1. 「献血血液の研究開発等での使用に関する指針」が作られた目的は何ですか？

A 1.

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、研究開発等へ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す。また、研究開発等への使用により、本来の効能又は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りません。

しかしながら、検査で不適合となった血液や有効期限の切れた血液製剤等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とから、取り扱いを明確化し、可能な限り多くの者が有効利用できるように、平成24年8月に、「献血血液の研究開発等での使用に関する指針」(以下「本指針」と略します。)を策定しました。

Q 2. 献血血液ではなく、患者さんを対象にしていたこれまでの臨床研究についての血液についても、今回の指針で制限が加わるのですか？

A 2.

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、本指針の対象外です。

Q 3. 血液製剤の有効性・安全性や献血の安全性向上には関係がない研究についても、本指針の対象になりますか？

A 3.

血液製剤の有効性・安全性や献血の安全性向上に関係ない研究であっても、広く国民の公衆衛生の向上を目的とした使用である場合には、本指針の対象となります。

Q 4. 「広く国民の公衆衛生の向上を目的とした使用」とは何でしょうか？

A 4.

疾病の診断、病態の解明、疫学研究等、医学の発展や国民の健康の保持増進に役立つための使用を意味するものであり、例として次のようなものが挙げられます。

- ・研究開発での使用

例：新たな診断薬の開発

- ・品質管理試験での使用

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

- ・検査試薬での使用

例：体外診断薬の試薬血液型判定試薬、抗血小板抗体試薬、教育目的の検査実習での

## 使用

Q 5. どういった血液が本指針の対象になりますか？

A 5.

本指針の対象となる献血血液は、採血事業者又は血液製剤製造販売業者において保管・管理されているもので、例として次のようなものが挙げられます。

- ・血液製剤の規格に適合しない血液

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

- ・血液製剤の製造に伴って副次的に得られるもの

例：検査用検体の残余血液、血漿分画製剤の製造過程で得られた廃棄画分

- ・血液製剤としての規格に適合する血液

Q 6. 以下の血液は本指針の例示に挙がっていませんが、対象となりますか？

- (ア) 医療機関において、手術で使用した輸血バッグに付属しているセグメントチューブ
- (イ) 医療機関において、有効期限切れ等の理由により使用されなくなった血液
- (ウ) 輸血用血液製剤の製造工程で実施される保存前白血球除去において、フィルターに残存した白血球

A 6.

(ア)：対象外です。(医療機関に供給された後の献血血液については、本指針の対象外となります)

(イ)：対象外です。(ア)と同様)

(ウ)：対象となりますが、提供できない場合もあるので、事前に採血事業者にお問い合わせください。

Q 7. 過去に採血された献血血液についても、本指針の対象となりますか？

A 7.

保管年限(11年)を超えた調査用の血液等、過去に採血された献血血液についても、本指針の対象となります。ただし、献血時の同意取得等、検討すべき課題が残されていることから、現時点では公募の対象とはしていません。

新規Q. 市場に流通している血漿分画製剤は、公募の対象になりますか？

新規A.

市場に流通している血漿分画製剤について、研究者が購入可能な場合には、原則的に、公募の対象とはしていません。

なお、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りません。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しております。

<献血者への同意等>

Q 8. 他の関係指針等で個別の同意が必要とされる場合は、献血者への同意説明文書を作成し、申請時の添付資料とすることになっていますが、現在、献血時にはどのような同意取得がなされているのでしょうか？

A 8.

献血時には、全ての献血者に対して、平成25年1月から、下記の内容で同意を取得することとしています。この内容に同意いただけない場合には、当該血液を研究開発等に使用することはありません。

血液の有効利用について

いただいた血液は以下の研究開発等に使用することがあります。

- ・血液製剤の有効性・安全性の向上及び検査法の向上を目的とした使用
- ・病気の診断・治療や国民の健康状態の改善を目的とした使用

また、平成27年度から、献血者に対し各研究の個別の使用目的等に関する情報公開を日本赤十字社にて行う予定です。申請者は必要に応じ、情報公開に用いる説明文を申請書に添付してください。説明文の作成及びフォーマットについては、日本赤十字社ホームページ（URL：〇〇〇〇）をご参照ください。

新規 Q. 本指針の第3の「1 インフォームド・コンセントについて」の中における記載「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。」とありますが、包括同意の他に、個別の研究の使用目的等について文書により説明を行う必要はあるのでしょうか？

新規 A.

本記載は、「献血血液が研究開発等へ使用される可能性があること」について献血者に対して説明を行い、同意を得よう示したものです。その際、個別の使用目的等に関する情報を公開する場合等においては、同意説明文章中に個別の研究の使用目的等の内容を含める必要はありません。

Q 9. 本指針に基づく申請で承認されれば、献血者から改めてインフォームド・コンセントを受領しなくても良いということですか？

A 9.

本指針に基づく申請で承認が得られた場合であっても、「疫学研究に関する倫理指針」及「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」の対象となる研究を実施する場合には、それぞれの研究指針におけるインフォームド・コンセントに係る規程に基づき、文書による個別同意が必要となる場合があります。

Q 10. 私の研究は「臨床研究に関する倫理指針」にいう観察研究ですが、改めてインフォームド・コンセントを受領する必要はありますか？

A 10.

献血血液を使用することに関しては、改めて個別同意を受領することは必須ではありませんが、全体的な研究内容によっては個別同意が必要となる場合があります。

Q 11. 文書による個別同意を得るために、献血会場で採血事業者又は研究者が、研究実施申請書の添付書類である同意説明文書を用いて、献血者に対して説明し同意を得ることは可能でしょうか？

A 11.

採血事業者又は研究者が献血会場で直接献血者に説明し、同意を得ることは、血液の提供を強要することに繋がり兼ねないため、実施すべきではありません。

Q 12. 献血血液の輸血以外への使用では、全て倫理審査を受ける必要があるのでしょ  
うか？

A 12.

献血血液の輸血以外への使用では、適正使用を図るためにも倫理審査を受ける必要があります。

(倫理審査を受ける必要がある例)

- ・人工赤血球の開発への使用
- ・病原体不活化法の開発への使用
- ・新たな血漿分画製剤の開発への使用
- ・血液を介して感染するおそれのある病原体の疫学研究への使用

しかしながら、次の例のように、研究以外の使用であることが明確で、かつ、その使用が必要不可欠な場合においては、必ずしも倫理審査を受ける必要はありません。ただし、申請課題の評価の過程で必要と認められた場合は、倫理審査を受けていただくことを条件とする場合があります。

- ・教育機関、学会等における教育目的の検査実習での使用
- ・標準血球、コントロール血清等の日常検査における検査試薬としての使用
- ・すでに製造方法、使用方法が確立している検査試薬、医薬品の原料としての使用

<申請手続き>

Q 13. 公募は定期的に行われるのでしょうか？

Q 13.

公募は原則として年1回を予定しています。ただし、緊急性や必要性に応じて追加の公募を行う可能性があります。

Q14. どこに申請すればいいのですか？窓口を教えてください。

A14.

献血血液の研究開発等での使用に関する申請先は、希望する献血血液を保管・管理する採血事業者又は血液製剤製造販売業者となります。各窓口は以下のとおりです。

○日本赤十字社血液事業本部製造管理課

応募方法 : 郵送及び電子メール（両方）  
メールアドレス : nissekikoubo@jrc.or.jp  
住 所 : 〒105-8521 東京都港区芝大門 1-1-3  
電話番号 : 03-3437-7204

○一般財団法人化学及血清療法研究所生産管理部生産管理課

応募方法 : 電子メール  
メールアドレス : kenketsu-km@kaketsuken.or.jp  
電話番号 : 096-344-1463

○一般社団法人日本血液製剤機構研究開発本部研究開発推進室

応募方法 : 郵送又は電子メール  
住 所 : 〒105-6107 東京都港区浜松町 2-4-1  
世界貿易センタービル7階  
メールアドレス : kenpatsu@jbpo.or.jp  
電話番号 : 03-6435-6517

○日本製薬株式会社信頼性保証部品品質保証グループ

応募方法 : 郵送又は電子メール  
住 所 : 〒101-0031 東京都千代田区東神田 1-9-8  
メールアドレス : shinrai.hinsyou@nihon-pharm.co.jp  
電話番号 : 03-3864-8413

Q15. どのくらいの数や量まで申請できるのでしょうか？

A15.

一概に基準を示すことはできませんが、申請課題の評価においては、特定の者に使用量が偏ることがないか、採血事業者又は血液製剤製造販売業者に過度の業務負担がかかることはないか、という観点から確認が行われるため、これらに該当する場合には、評価の結果、承認されない可能性があります。

Q16. 研究実施申請書の「使用者が適切に使用できる体制」について、全てを満たす必要があるのでしょうか？

A16.

「使用者が適切に使用できる体制」の項目については、原則として全てを満たす必要があります。

Q17. 採血事業者又は血液製剤製造販売業者が、自ら保管・管理する献血血液を研究開発等に使用する場合でも、自らに対して申請する必要があるのでしょうか？

A17.

本指針の第4の1に基づき、「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た使用」については、採血事業者又は血液製剤製造販売業者が自らで適正な評価を実施すれば、自らに対して申請する必要はありません。ただし、使用状況等は血液事業部会運営委員会に報告する必要があります。

一方、「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、使用者が採血事業者又は血液製剤製造販売業者の場合でも血液事業部会運営委員会での事前評価対象となりますので、自らに対して申請する必要があり、その使用状況等も血液事業部会運営委員会に報告する必要があります。

なお、本指針は、献血血液の本来の用途である血液製剤の製造に使用される血液（製造工程中の工程管理や品質管理に使用される血液等）は対象にしていないことから、これらの用途に使用する血液について、申請及び使用状況等の報告を行う必要はありません。

Q18. 申請課題は誰がどのように評価するのでしょうか？

A18.

本指針の第4の1に基づき、以下のいずれかに該当する場合は、血液事業部会運営委員会での事前評価が行われ、以下のいずれにも該当しない場合は、申請先である採血事業者又は血液製剤製造販売業者が評価を行うこととなります。

- ・使用目的が、「疫学研究・調査」又は「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
- ・使用者が、営利を目的とした者である場合
- ・使用する献血血液が、血液製剤としての規格に該当する血液
- ・使用方法に、ヒト遺伝子解析・検査等が含まれる場合
- ・その他、血液事業部会運営委員会での評価が適当と思料される場合

Q19. 申請後どのくらいの期間で結果が判明しますか？

A19.

採血事業者又は血液製剤製造販売業者での評価等に要する期間、血液事業部会運営委員会での事前評価に要する期間等を勘案し、結果通知には公募締切日から少なくとも3ヵ月程度は必要となります。

Q20. 実費程度の費用について、具体的に金額の目安はありますか？

A 2 0.

献血血液の種類や必要となる作業量等により異なると思われることから、具体的に金額の目安を例示することはできません。受渡し及び運搬に係る費用についても同様です。詳細は各窓口（A 1 4. 参照）にお問い合わせください。

<その他>

Q 2 1. 献血血液の研究開発等での使用に際して、ウイルス感染等の保健衛生上の危害が発生した場合等には、どこに報告すればよいでしょうか？

A 2 1.

直ちに必要な処置を行うとともに、厚生労働省医薬食品局血液対策課に報告してください。

厚生労働省医薬食品局血液対策課

電話番号：03-3595-2395（直通）

Q 2 2. 献血血液がどのような研究開発等に使用されているか知ることはできますか？

A 2 2.

献血血液の研究開発等での使用状況については、厚生労働省ホームページ及び血液事業部会運営委員会において公表する予定です。

Q 2 3. 申請した研究内容が公表されては困るのですが、必ず公表されるのですか？

A 2 3.

申請課題のうち、「承認」された課題については、下記事項を厚生労働省ホームページ及び血液事業部会運営委員会で必ず公表します。その他、研究開発申請書のうち開示可とした部分については、第三者の求めに応じて開示することがあります。

○承認後速やかに公表する事項：研究実施申請書のうちの以下の項目

- ・研究開発等課題名
- ・研究責任者の氏名、所属及び職名
- ・献血血液の使用目的
- ・使用する献血血液の区分及び種類と量

○研究終了時に公表する事項

- ・承認課題の報告書の概要

Q 2 4. 申請が承認された後に申請内容に変更が生じた場合は、どのように対応すべきでしょうか？

A 2 4.

申請内容に軽微な変更が生じた場合は、変更・追加申請書（様式2）に変更内容等を記入し採血事業者又は血液製剤製造販売業者へ提出してください。

なお、献血血液の使用目的変更、使用区分の変更等、研究内容に対する変更が大幅に行われ、既存の申請課題と内容がかけ離れると判断される場合は新規研究としての申請手続が必要となる場合があります。

ご質問は、各申請窓口（採血事業者又は血液製剤製造販売業者）にお問い合わせください。

<参考：変更・追加申請書（様式2）に添付する資料について>

・申請内容の変更に伴う研究計画の変更がない場合は、変更・追加申請書（様式2）提出時に研究計画書を添付する必要はありません。

例) 研究責任者、分担研究者等の変更・追加

共同研究機関の変更・追加

研究期間の変更

献血血液使用量の若干量の追加、

・変更の内容が研究計画に関わる場合は、変更した研究計画書等の書類（変更に対し施設倫理委員会の審査を行っている場合には、この結果も含む）を添付してください。

例) 説明同意文書の変更

研究計画書の変更

利益相反に新たな報告すべき事項が生じた場合



## オーストラリア視察概要

〔目的〕 献血時の虚偽申告に対する罰則の設定の背景や献血に及ぼす影響等を調査

〔調査期間〕 平成 26 年 3 月 25 日-3 月 28 日

〔訪問対象施設〕 オーストラリア保健省  
オーストラリア赤十字本部  
製剤センター、献血ルーム

〔調査項目〕

1. 献血における HIV スクリーニング方法
2. 献血における HIV 陽性者数とその特徴
3. 検査目的の献血への対策
4. 献血センターの見学
5. 献血に対する刑事罰の効果

〔結果〕

### 1. 献血における HIV スクリーニング方法

適切なトレーニングを受け、技能を備え、献血者評価のための必要事項を理解していると認定された問診者による問診、HIV 抗体検査および、個別 NAT によりスクリーニングを実施。問診には、12 ヶ月以内に HIV 感染可能性のあるパートナーとの性交歴や sex worker の職務経験歴があるか等の内容を含む。問診票には真実の申告としての宣誓署名欄がある。

参考：オーストラリア問診票 B13, 5 ページ C (資料 6-2)、日赤問診票 19, 20 (資料 6-3)

### 2. 献血における HIV 陽性者数とその特徴

オーストラリアの献血者における 2012 年の HIV 陽性率は 10 万件あたり 0.23 と日本の陽性率 1.29 よりも低値。献血者の HIV が陽性であるリスク因子は、パートナーが違法薬物の静脈注射をしている、パートナーが MSM であるなど、パートナーに HIV 感染のリスクがあること、パートナーが HIV 陽性者であること、本人が MSM であることなどが挙げられる。

また、オーストラリアでは、国民全体の年間 HIV 陽性発生率に比べ献血者の陽性率は低い。

### 3. 検査目的の献血への対策

MSM 集団等への教育・啓発活動、集会等での検査サービス、迅速検査の活用などが行われている。HIV 検査は公表されている特定のクリニックで無料、匿名で可能であり検査を受けやすい環境である。マグネット効果（献血時に

HIV 検査が受けられると、HIV 検査目的の者が献血に集まる効果）は問題にならないと考えられている。

### 4. 献血センターの見学

オーストラリアの献血センターは問診時、問診内容が他者に聞こえないようにプライバシーに配慮した構造になっている。献血は予約制度が一般的で、インターネット上の予約が可能であるとともに、献血時に次回の予約を行っている場合が多い。

### 5. 献血に対する刑事罰の効果

オーストラリアでは、従来から公文書等の虚偽申告に対する刑事罰が規定されており、これを献血時の問診に関する虚偽申告にも適用し、州により、1,000, 5,000, 10,000 ドルの罰金や数年の禁固刑等の刑事罰が科せられている。HIV の感染の可能性があるものが、虚偽により献血を行うことに対して、罰則はある程度の抑制効果にはなるものの、虚偽申告を防止するための中心的対処法とは考えられていない。1985 年の刑事罰導入以来、実際の適用事例はない。献血者を対象にした虚偽申告調査研究では、12 ヶ月以内の性交歴に関する MSM 虚偽申告率が他国に比べ低いと推測される結果が報告されており、その理由として、ハイリスクコミュニティに対する検査や啓発などの介入や、献血時の問診の効果が挙げられている。

〔結論〕 オーストラリアでは、検査目的の献血は HIV 検査へのアクセスのしやすさや啓発活動などから問題とされておらず、国民全体の HIV 陽性率に比べ、献血者の陽性率は低い状況。献血に対する刑事罰は、ある程度の抑制効果にはなるものの、虚偽申告を防止するための中心的対処法とは考えられていない。

# Donor questionnaire

Thank you for coming to give blood today.

Your donation could save the life of someone or help them through an operation (surgical procedure). The Australian Red Cross Blood Service is committed to providing safe blood and blood products to those who need them.

## The Donation Process

We are going to ask you to answer some questions about your general health to help us to decide if it is safe for you to give blood and, if so, how we can best use your blood. All of these questions are important though the reasons for some of the questions may be difficult to understand. Please discuss them with the member of staff who will be interviewing you. We are committed to keeping your answers and anything you tell us in the interview CONFIDENTIAL in so far as we are able.

Even though there are a lot of questions, you need to answer them honestly and to the best of your ability. Answering these questions honestly is important to ensure the safety of blood products. There are severe penalties, including fines and/or imprisonment for false or misleading information.

Blood is tested primarily to ensure recipient safety. Donors should never rely on this testing for their own personal health screening purposes.

Prior to release, all donations must be tested for the presence of hepatitis B, hepatitis C, HIV (AIDS virus), HTLV and syphilis. Should your blood test positive or show a significantly abnormal result, you will be notified. However, on some occasions laboratory testing cannot be performed and your donation will not be used.

You have the option to change your mind about donating blood at any time. Please indicate to staff if you wish to leave at any time during the donation process.

Complete using ink – not pencil. If you make a mistake, cross it out and initial the correction. Do not use liquid paper as this will invalidate the form and you will need to complete a new form.

## Privacy statement

The personal information collected on this form allows the Blood Service to register and retain you as a blood donor. All information collected will be handled in the strictest confidence in accordance with the Privacy Act 1988 (Cth).

For more information, please ask for a Privacy brochure.

For more information  
call 13 14 95 or visit [donateblood.com.au](http://donateblood.com.au)

## On the Day

- Eat up. Make sure that you eat something in the 3 hours before donating.
- Be prepared by having plenty of liquid the day before donation, especially in warm weather. In addition, in the 3 hours before donating, please drink at least 3 good-sized glasses of water/juice.
- Provide identification: Have your photo ID or donor ID card handy.

You should fill in the declaration section but please don't sign until you have completed the interview!

## For your records

A staff member will enter your details below:

Donor Number:

Date:

Haemoglobin g/L:

The Blood Service acceptable ranges for haemoglobin are:

### Whole blood donors:

Females 120 to 165 g/L and Males 130 to 185 g/L

### Plasma and platelet donors:

Females 115 to 165 g/L and Males 125 to 185 g/L

Blood Pressure (mmHg/mmHg):



Australian Red Cross  
**BLOOD SERVICE**



## Information about the risks of donating blood

### Blood donation is extremely safe

However, problems occasionally arise during or after a donation. These problems are not common but we are telling you about them so that, if they do occur, you will know some simple and appropriate steps to take.

**Please note: All equipment used in blood collection is sterile, used once only and discarded.**

If you experience any problems or you feel unwell whilst you are at the donor centre sit down and ask a staff member for assistance. Are you feeling anxious? Please let us know. We can help you feel at ease.

### Feeling faint and reflex

Fainting is caused by a reflex which slows your pulse and lowers your blood pressure for a short time.

About 1.5% of blood donors may feel faint (dizzy, light headed, hot, sweaty or unwell) during or immediately after their donation. A much smaller number of donors (about 0.15%) faint (lose consciousness).

About 0.15% of donors will feel faint or faint after they have left the donor centre.

### Reducing the chance of fainting

- You should drink 3 good-sized glasses of water/juice prior to visiting the Blood Donor Centre. Be prepared by having plenty of liquid in the 24 hours before donation, especially in warm weather.
- Make sure that you eat something in the 3 hours before donating – savoury and salty foods are best.
- If you usually have low blood pressure and feel faint when you stand up suddenly, please tell us prior to donating.
- Tense and relax your calf and thigh muscles repeatedly and move your legs and feet during your donation.
- Spend at least 15 to 20 minutes in the refreshment area and have a cool drink after donating to allow your blood volume to adjust.

To reduce your chance of fainting after you have left the Blood Donor Centre for the next 6 hours:

- Continue to drink plenty of cool fluids but avoid alcoholic and hot drinks.
- Avoid standing still for long periods, do not rush or do strenuous exercise or have a hot shower.

### What to do if you feel faint

If you feel faint or unwell whilst you are at the Blood Donor Centre please tell a staff member immediately.

If you feel faint after you have left the donor couch, immediately sit or lie down as flat as possible to avoid falling and injuring yourself and:

- Remain lying down for around 30 minutes or until you feel well again.
- Whilst lying down, tense your calf and thigh muscles for 5 seconds, then relax, and repeat this every 1 - 2 minutes.
- Sit up for at least 4-5 minutes before you stand up.
- Drink plenty of cool fluids (at least 2 good sized glasses) and have a savoury snack before you leave.
- Do not drive for at least 6 hours after you have recovered because there is a small risk that you may faint again whilst you are driving

If you feel faint whilst you are driving, slow down and stop the car as soon as it is safe to do so. Remain in the car, and lay your seat as flat as possible. It is recommended that you do not get out of your car as fainting beside a road can be hazardous. Do not attempt to drive again. Call 000 for an ambulance.

### Bruising and bleeding

Small bruises at the needle site are not unusual, but generally cause very few problems and disappear fully within a week. Larger bruises or bleeding from the needle site occur infrequently.

To reduce the risk of bruising and bleeding at the needle site

- Avoid using your donation arm to eat and drink while at the Blood Donor Centre and be careful when putting on a jacket after donating.

- Avoid lifting or carrying anything with your donation arm for 30 minutes and minimise heavy lifting for 24 hours.
- Keep the bandage on your arm for 2 hours.

If you develop a bruise that causes discomfort, an icepack and/or a mild pain reliever such as paracetamol (not aspirin or other anti-inflammatory medication e.g. ibuprofen), may help. Do not put ice or ice packs directly onto your skin – always wrap the ice/ice pack and only use it for up to 20 minutes at a time, 3-4 times a day.

If you start bleeding from the needle site, you should apply pressure to the bleeding site and lift your arm above your shoulder for 15 minutes while keeping your elbow straight.

Please phone the Blood Service on 13 14 95 if bleeding or bruising occurs so we can help.

### Uncommon events

- Nerve irritation: Sometimes the donation needle may irritate a nerve under the skin. This may cause pain which is normally only momentary. If any pain persists following the insertion of the needle please advise staff immediately. Pressure on a nerve may also cause temporary numbness of the forearm.
- Needle inserted into an artery – once identified the needle will be removed and pressure applied.
- Infection or thrombosis – if you develop redness, tenderness or swelling this may be due to infection and/or a blockage of the vein with a blood clot (thrombosis).
- Increase in pulse rate or a sensation of tightness or pain in the chest.

If you have any of these symptoms or concerns whilst in the Blood Donor Centre please let the staff know immediately so they can assist. If symptoms develop after leaving the Blood Donor Centre, and you require urgent attention, first seek attention from a hospital or doctor so the problem can be assessed. If you are unsure whether you should seek medical attention, please call us for advice and if you do see a doctor we would like to hear the outcome – please call us on 13 14 95.

### Iron levels and blood donation

Red blood cells are rich in iron and therefore blood donation results in iron loss. If your iron stores fall too low, you may become iron deficient. This may lead to:

- Tiredness and/or difficulty concentrating.
- Low haemoglobin levels (anaemia).

Before donating, all donors undergo a haemoglobin screening test. This is to ensure we do not take blood from donors who have or may be at risk of anaemia. If your haemoglobin is below our guidelines we will delay your donation and may refer you to your general practitioner.

The haemoglobin screening test is not a direct measure of iron levels and therefore does not detect all cases of iron deficiency. To help replace the iron loss associated with donation, and prevent iron deficiency and anaemia, we recommend you have a healthy dietary intake of iron rich foods. This may not be sufficient for all donors, especially youth donors and women of childbearing age. If you have concerns about your iron levels or would like further information, please discuss with a member of staff and/or your general practitioner. More information can be obtained in our brochure "Why iron and haemoglobin are important".

## A New and returned donors

### Please complete this section only if:

- you are a new donor, or
- you have not donated within the last 2 years.

Otherwise, proceed to section B.

Please respond by placing a cross or a tick in the relevant box. Do not circle.

Have you:			Comments (staff use only)
1. Ever volunteered to donate blood before?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	NP
If yes – where? ..... When? .....			
2. Ever been advised not to give blood?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	NP
3. Ever suffered from anaemia or any blood disorder?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	A4
4. Ever had a serious illness, operation or been admitted to hospital?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	A5
5. Had a neurosurgical procedure involving the head, brain or spinal cord between 1972 and 1989?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	A6
6. Ever received a transplant or graft (organ, bone marrow, cornea, dura mater, bone, etc.)?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	A7
7. Received injections of human growth hormone for short stature or human pituitary hormone for infertility prior to 1986?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	A8
8. Ever suffered from a head injury, stroke or epilepsy?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	A9
9. Ever had a heart or blood pressure problem, chest pain, rheumatic fever or a heart murmur?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	B0
10. Ever had a bowel disease, stomach or duodenal problems or ulcers?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	B1
11. Ever had kidney, liver or lung problems including tuberculosis (TB)?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	B2
12. Ever had diabetes, a thyroid disorder or an autoimmune disease e.g. rheumatoid arthritis or lupus?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	B3
13. Ever had cancer of any kind including melanoma?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	B4
14. Ever had malaria, Ross River fever, Q fever, leptospirosis or Chagas' disease?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	B5
15. Ever had jaundice (yellow eyes/skin) or hepatitis?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	B6
16. Been outside Australia in the last 3 years?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	B7
17. What was your country of birth? .....			M1
18. From 1 January 1980 through to 31 December 1996 inclusive, have you spent (visited or lived) a total time which adds up to 6 months or more in England, Scotland, Wales, Northern Ireland, the Channel Islands, the Isle of Man, or the Falkland Islands?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	M8
19. Have you ever had treatment with the medication TIGASON (Etretinate) or NEOTIGASON (Acitretin)?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	B9

## B Medical questionnaire

### All donors please complete this section

Please respond by placing a cross or a tick in the relevant box. Do not circle.

Today:			Comments (staff use only)
1. Are you feeling healthy and well?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	C0
2. Have you ever been pregnant (including miscarriage and termination of pregnancy)? (Males please tick "I am male")	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	C1
			I am male <input type="checkbox"/>
2a. If your answer is "Yes" – how many pregnancies? – have you been pregnant in the last 9 months?	Number <input type="text"/>		74
	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	75

#### For safety reasons:

3. In the next 3 days, do you intend to participate in any activity which would place you or others at risk of injury if you were to become unwell after donating, such as: Driving public transport, operating heavy machinery, underwater diving, piloting a plane or other activities?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	C2
---	------------------------------	-----------------------------	----

#### In the last week, have you:

4. Had dental work, cleaning, fillings or extractions?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	C4
5. Taken any aspirin, pain killers or anti-inflammatory preparations?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	C5
6. Had any cuts, abrasions, sores or rashes?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	C6
7. Had a gastric upset, diarrhoea, abdominal pain or vomiting?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	C7

#### Since your last donation, have you – or if you are a new donor, have you in the last 12 months:

8. Been unwell, or seen a doctor or any other health care practitioner, had an operation (surgical procedure) or any tests/investigation?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	C9
9. Had chest pain/angina or an irregular heartbeat?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	D0
10. Taken tablets for acne or a skin condition?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	D1
11. Taken any other medication, including regular or clinical trial medication?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	D2
12. Worked in an abattoir?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	D3
13. Had a sexually transmitted infection e.g. gonorrhoea, syphilis or genital herpes?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	D5
14. Had any immunisations/vaccinations including as part of a clinical trial?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	D6
15. Had shingles or chickenpox?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	D7
16. Do you know of anyone in your family who had or has:			
• Creutzfeldt-Jakob disease (CJD)?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	D8
• Gerstmann-Straussler-Scheinker syndrome (GSS)?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	D8
• Fatal familial insomnia (FFI)?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	D8

#### Travel history and overseas residence:

17. Have you ever been outside Australia (including being born outside Australia)?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	M5
If your answer to question 17 is 'No' (i.e. you have never been outside Australia) – go straight to Section C			
18. Have you ever spent a continuous period of 6 months or more outside Australia?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	G9
19. Have you ever received a transfusion or injection of blood or blood products outside Australia?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	M2
20. Since your last donation have you been outside Australia?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	M4

Never donated before

# C Donor declaration

## All donors please complete this section

There are some people who **MUST NOT** give blood as it may transmit infections to those who receive it. To determine if your blood or blood products will be safe to be given to people in need, we would like you to answer some questions. These questions are a vital part of our efforts to eliminate diseases from the blood supply. All of the questions are important to answer. Answer each question on the form as honestly as you can and to the best of your knowledge. **THERE ARE PENALTIES INCLUDING FINES AND IMPRISONMENT FOR ANYONE PROVIDING FALSE OR MISLEADING INFORMATION.**

All donations of blood are tested for the presence of hepatitis B and C, HIV (the AIDS virus), HTLV and syphilis. If your blood test proves positive for any of these conditions, or for any reason the test shows a significantly abnormal result, you will be informed.

Please respond by placing a cross or a tick in the relevant box. Do not circle.

To the best of your knowledge, have you EVER: Comments (staff use only)

- |   |                              |                             |    |
|---|------------------------------|-----------------------------|----|
| 1. Thought you could be infected with HIV or have AIDS?   | Yes <input type="checkbox"/> | No <input type="checkbox"/> | E2 |
| 2. "Used drugs" by injection or been injected, <b>even once</b> , with drugs not prescribed by a doctor or dentist? | Yes <input type="checkbox"/> | No <input type="checkbox"/> | E3 |
| 3. Had treatment with clotting factors such as Factor VIII or Factor IX?  | Yes <input type="checkbox"/> | No <input type="checkbox"/> | E4 |
| 4. Had a test which showed you had hepatitis B, hepatitis C, HIV or HTLV?   | Yes <input type="checkbox"/> | No <input type="checkbox"/> | E5 |

In the last 12 months have you:

- |  |                                      |                             |    |
|--|--------------------------------------|-----------------------------|----|
| 5. Had an illness with swollen glands and a rash, with or without a fever?   | Yes <input type="checkbox"/>         | No <input type="checkbox"/> | E1 |
| 6. Engaged in sexual activity with someone you might think would answer "yes" to any of questions (1-5)?             | Yes <input type="checkbox"/>         | No <input type="checkbox"/> | E6 |
| 7. Had sexual activity with a new partner who currently lives or has previously lived overseas?                      | Yes <input type="checkbox"/>         | No <input type="checkbox"/> | E7 |
| 8. Had sex (with or without a condom) with a man who you think may have had oral or anal sex with another man?       | Yes <input type="checkbox"/>         | No <input type="checkbox"/> | F0 |
| 9. Had male to male sex (that is, oral or anal sex) with or without a condom?<br>(Females please tick "I am female") | Yes <input type="checkbox"/>         | No <input type="checkbox"/> | E9 |
|  | I am female <input type="checkbox"/> |                             |    |
| 10. Been a male or female sex worker (e.g. received payment for sex in money, gifts or drugs)?                       | Yes <input type="checkbox"/>         | No <input type="checkbox"/> | F1 |
| 11. Engaged in sexual activity with a male or female sex worker?   | Yes <input type="checkbox"/>         | No <input type="checkbox"/> | F2 |
| 12. Been imprisoned in a prison or been held in a lock-up or detention centre?                                       | Yes <input type="checkbox"/>         | No <input type="checkbox"/> | F6 |
| 13. Had a blood transfusion?   | Yes <input type="checkbox"/>         | No <input type="checkbox"/> | F7 |
| 14. Had (yellow) jaundice or hepatitis or been in contact with someone who has?                                      | Yes <input type="checkbox"/>         | No <input type="checkbox"/> | F8 |

In the last 6 months have you:

- |  |                              |                             |    |
|--|------------------------------|-----------------------------|----|
| 15. Been injured with a used needle (needlestick)?   | Yes <input type="checkbox"/> | No <input type="checkbox"/> | F3 |
| 16. Had a blood/body fluid splash to eyes, mouth, nose or to broken skin?  | Yes <input type="checkbox"/> | No <input type="checkbox"/> | F4 |
| 17. Had a tattoo (including cosmetic tattooing), body and/or ear piercing, electrolysis or acupuncture (including dry-needling)? | Yes <input type="checkbox"/> | No <input type="checkbox"/> | F5 |

# C Donor declaration continued

## This declaration is to be signed in the presence of a Blood Service staff member (Please read the following conditions)

Thank you for answering these questions. If you are uncertain about any of your answers, please discuss them with your interviewer.

We would like you to sign this declaration in the presence of your interviewer (a Blood Service staff member) to show that you have understood the information on this form and have answered the questions in the declaration to the best of your knowledge.

Your donation is a gift to the Blood Service to be used to treat patients. In some circumstances, your donation may be used by the Blood Service or other organisations for the purposes of research, teaching, quality assurance or the making of essential diagnostic reagents (including commercial reagents).

A part of your donation will also be stored in our Blood Sample Archive for possible future testing and research; samples that are no longer required will be destroyed. Approval from an appropriate Human Research Ethics Committee is required before any research is undertaken on your donation or any part of it. You may be asked by the Blood Service to undergo further testing which you have the option to decline.

Should you become aware of any reason why your blood should not be used for transfusion after your donation, please call us on 13 14 95. In particular, if you develop a cough, cold, diarrhoea or other infection within a week after donating, please report it immediately.

### Acknowledgement of responsibilities and risks (Please initial and sign only in the presence of the interviewer)

I agree to have blood taken from me under the conditions above and:

• I have been provided with "Information about the risk of donating blood" on page 2 of this questionnaire. I have read and understood this information and have had the opportunity to ask questions. I accept the risks associated with donation and agree to follow the instructions of the Blood Service staff to minimise these risks.

Please initial

• I declare that I have understood the information on this form and answered the questions in the declaration honestly and to the best of my knowledge. I understand that there are penalties, including fines and imprisonment, for providing false or misleading information.

Please initial

### Donor (please print)

Surname/family name ..... Given name .....

Date of birth / /

Please **ONLY** sign in the presence of the interviewer

Signature ..... Date / /

### Staff witness (please print)

Donor identity verified Yes  No  Checked spelling of name Yes  NA  Supplementary questions answered Yes  NA

Surname/family name ..... Given name .....

Signature ..... Time ..... Date / /

Donation number .....

Office use only: Record here any additional information if required for data entry, including malaria information.

**Malaria Resident – Status** Malaria resident permanent status (130 (identify previous malaria residency) Yes  No

**Malaria Travel – Testing** Previous malaria antibody testing performed? Yes  No

Most recent antibody test result: Non-reactive (A150)  Reactive – Resident (A154)

Probable parasitaemic (27PP)  Reactive – Visitor / History (A155)

Malarial antibody test result date (Start date of deferral) / /

Has the donor returned to a malarial area since last antibody test? Yes  No

Is it >120 days since return from travel? Yes  No

**Haemoglobin – Testing** Capillary Hb  g/L Initials Donor Height  cm Initials

**Blood pressure reading**  mmHg/mmHg Initials Donor Weight  kg Initials

Note: Initials are only required if performed outside Assessment.

How many good-sized glasses of water/juice has the donor had in the last 3 hours?

(As a guide, in the 3 hours before donating, at least 3 good-sized glasses of water/juice are recommended.)

# 問 診 票

資料 5-3

以下の質問は、献血される方と輸血を受けられる方の安全を守るためにつかおうものです。

表現上、不快の念を抱かれる部分があるかもしれませんが、「責任ある献血」のために、何卒ご理解のほどよろしく願いたします。

エイズ検査目的の献血は、必要とする患者さんの安全のためにお願いします。(注意) 法令の規定により、記入された問診票及び献血申込書(診療録)の返却・廃棄はできません。

質問事項				質問事項			
1	今日の体調は良好ですか。	はい	いいえ	14	海外から帰国(入国)して4週間以内ですか。	はい	いいえ
2	3日以内に出血を伴う歯科治療(抜歯、歯石除去等)を受けましたか。	はい	いいえ	15	1年以内に外国(ヨーロッパ・米国・カナダ以外)に滞在しましたか。 (国名 )	はい	いいえ
3	3日以内に薬を飲んだり、注射を受けましたか。 ( )	はい	いいえ	16	4年以内に外国(ヨーロッパ・米国・カナダ以外)に1年以上滞在しましたか。 (国名 )	はい	いいえ
4	次の育毛薬/前立腺肥大症治療薬を使用したことがありますか。 プロペシア・プロスカ等(1ヵ月以内)、アボダート・アボルブ等(6ヵ月以内)	はい	いいえ	17	英国に1980年(昭和55年)~1996年(平成8年)の間に 通算1ヵ月以上滞在しましたか。	はい	いいえ
5	次の薬を使用したことがありますか。 乾せん治療薬(チガソン)、ヒト由来プラセンタ注射薬(ラエンネック・メルスモン)	はい	いいえ	18	ヨーロッパ(英国も含む)・サウジアラビアに1980年以降、 通算6ヵ月以上滞在しましたか。 (国名 )	はい	いいえ
6	24時間以内にインフルエンザの予防接種を受けましたか。	はい	いいえ	19	エイズ感染が不安で、エイズ検査を受けるための献血ですか。	はい	いいえ
7	1年以内にインフルエンザ以外の予防接種を受けましたか。 ( )	はい	いいえ	20	6ヵ月以内に次のいずれかに該当することがありましたか。 ①不特定の異性または新たな異性との性的接触があった。 ②男性どうしの性的接触があった。 ③麻薬、覚せい剤を使用した。 ④エイズ検査(HIV検査)の結果が陽性だった(6ヵ月以前も含む)。 ⑤上記①~④に該当する人と性的接触をもった。	はい	いいえ
8	次の病気や症状がありましたか。 3週間以内-はしか、風疹、おたふくかぜ、帯状疱疹、水ぼうそう 1ヵ月以内-発熱を伴う下痢 6ヵ月以内-伝染性単核球症、リンゴ病(伝染性紅斑)	はい	いいえ	21	今までに輸血(自己血を除く)や臓器の移植を受けたことがありますか。	はい	いいえ
9	1ヵ月以内に肝炎やリンゴ病(伝染性紅斑)になった人が家族や 職場・学校等にいますか。	はい	いいえ	22	今までに次のいずれかに該当することがありますか。 ①クロイツフェルト・ヤコブ病(CJD)または類縁疾患と診断された。 ②血縁者にCJDまたは類縁疾患と診断された人がいる。 ③ヒト由来成長ホルモンの注射を受けた。 ④角膜移植を受けた。 ⑤破膜移植を伴う脳神経外科手術を受けた。	はい	いいえ
10	6ヵ月以内に次のいずれかに該当することがありましたか。 ①ピアス、またはいれずみ(刺青)をした。 ②使用後の注射針を誤って自分に刺した。 ③肝炎ウイルスの持続感染者(キャリア)と性的接触等親密な接触があった。	はい	いいえ	23	現在妊娠中または授乳中ですか。(男性の方は「いいえ」と回答してください) 6ヵ月以内に出産、流産をしましたか。	はい	いいえ
11	1年以内に次の病気等にかかったか、あるいは現在治療中ですか。 外傷、手術、肝臓病、腎臓病、糖尿病、結核、性病、ぜんそく、アレルギー疾患、 その他( )	はい	いいえ	私は以上の質問を理解し、正しく答えました。			
12	今までに次の病気にかかったか、あるいは現在治療中ですか。 B型肝炎、がん(悪性腫瘍)、血液疾患、心臓病、脳卒中、てんかん	はい	いいえ	<div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: center;"> <div style="width: 40%;"> <p>(注意) 1. 献血される方は、「はい・いいえ」欄の該当する方に <input checked="" type="checkbox"/> または <input type="checkbox"/> 印をご記入願います。</p> <p>2. それ以外の欄には、問診を行う者が、必要事項を記入いたします。</p> </div> <div style="width: 55%;"> <p>「献血の同意説明書」の内容について理解し、献血に同意しますか。</p> <p style="text-align: right;">はい <input type="checkbox"/> いいえ <input type="checkbox"/></p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; display: inline-block; margin-top: 10px;">署名</div> </div> </div>			
13	今までに次の病気にかかったことがありますか。 C型肝炎、梅毒、マラリア、バベシア症、シャーガス病、 リーシュマニア症、アフリカトリパノソーマ症	はい	いいえ				

(注意) 1. 献血される方は、「はい・いいえ」欄の該当する方に  または  印をご記入願います。  
2. それ以外の欄には、問診を行う者が、必要事項を記入いたします。

「献血の同意説明書」の内容について理解し、献血に同意しますか。  はい  いいえ

署名

愛知県赤十字血液センターにおける輸血用血液製剤保管管理の事故について  
(日本赤十字社血液事業本部 報告)

1. 事故の概要

- ・ 愛知県赤十字血液センターにおいて、赤血球製剤を保管していた冷蔵室の冷却機が故障したため、平成 26 年 3 月 31 日午後 5 時頃から翌 4 月 1 日午前 8 時までの間、冷蔵室の保管管理温度 (2~6℃) を超えた状態で赤血球製剤を保管していた。
- ・ 3 月 31 日午後 5 時頃、冷蔵室の保管管理温度を超えたことを知らせる警報が鳴ったが、担当職員は同日午後 4 時頃から実施していた棚卸作業により冷蔵室への人の出入りが多かったために室内温度が上昇し警報が鳴ったものと思ひ込み、適切な対応を取らなかった。
- ・ そのため、3 月 31 日午後 7 時から翌 4 月 1 日午前 8 時までの間に保管管理温度を超えた室内で保管されていた赤血球製剤 121 本が 30 医療機関へ出庫されたほか、最終的に冷蔵室に保管されていた 2,796 本の赤血球製剤が廃棄処分となった。

2. 事故後の対応

- ・ 30 医療機関へ納品された 121 本のうち、110 本は再現試験の結果から、製品の管理温度内 (2~6℃) であったと推定されたが、管理温度を超えていたと推定される 11 本が 2 医療機関に納品されていた。
- ・ 30 医療機関と連絡を取り、事故状況を説明し、製品の管理温度を超えていたと推定される 11 本を納品した 2 医療機関については、未使用分の返品を求め、他の医療機関については、使用・返品の確認を求めた。また、輸血患者の健康被害の発生の有無について報告をいただけるように依頼した。
- ・ 赤血球製剤については、東海北陸ブロック血液センターからの緊急払出しや他ブロック血液センターとの調整を行い、供給への支障は生じなかった。
- ・ 平成 26 年 5 月 30 日現在、輸血患者の健康被害の発生に関する報告はない。

※医療機関への出庫 121 本 使用 77 本、返品 44 本

うち製品の管理温度を超えた状態で出庫 11 本 使用 6 本 (患者 3 名)、返品 5 本

3. 再発防止策

(1) 愛知県赤十字血液センターにおける再発防止策

- ・ 保管機器等異常発生時の対応マニュアルについて、職員が機器異常を発見し、復旧不可能と判断した場合は、責任者へ連絡することとなっていたが、機器異常を発見したら、直ちに責任者へ連絡する体制に改正した。

- ・ 職員に対する教育訓練を実施し、保管温度の重要性や保管機器の異常時対応について徹底を行った。
- ・ 職員に対する保管機器異常発生時の対応に関する実地訓練を、年 2 回、定期的に行うこととした。
- ・ 保管機器を適切に管理するため、温度異常警報の音量及び音質を変更し警報を明確に判別できるようにした。警報停止ボタンを押下した後も規定温度を超えている間は再発報するようにシステムを変更した。警報発報中に視覚的にも異常を知らせるため、点滅ライトを新たに設置した。

(2) 日本赤十字社血液事業本部における再発防止策

- ・ 緊急情報を入手した場合の対応や連絡体制について、情報入手後、緊急対策委員会を招集して判断することとなっていたが、情報入手後、直ちに指示を出せるように血液事業本部危機管理手順書を改訂した。
- ・ 職員に対する教育訓練を実施し、緊急情報を入手時の対応や連絡体制について徹底を行った。
- ・ 血液製剤保管庫の温度管理及び温度逸脱時の対応を徹底するように全国の各赤十字血液センターに通知した。
- ・ 保管機器等の異常時の対応にかかるマニュアルの整備状況及び記載内容並びに職員・点検担当者等への教育訓練の実施状況を調査し、不備等のある場合は必要な措置を講じるように全国の各赤十字血液センターに通知した。
- ・ 事故等の調査・分析を専門的に行っている企業に依頼し、危機管理に関する継続的な指導を受けることとした。

報道機関 各位

平成 26 年 4 月 25 日  
日本赤十字社

## 献血の受付方法が変わります！ ～5月、北海道からスタート～

日本赤十字社は、献血して下さる方のプライバシー保護と業務コストの軽減を一層図ることを目的に、献血受付時に献血申込書（診療録）・問診票の完全電子化（ペーパーレス）とともに、新たに献血者の本人確認生体認証（指の静脈認証）システムの導入を、5月14日（水）より北海道赤十字血液センター（札幌市）から開始し、6月中に全国的に実施する予定です。

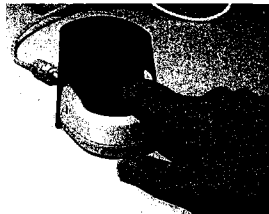
ぜひ、ご取材くださいますようお願いいたします。

■と き：2014年5月14日（水） 13:00～ （※取材受付は現地にて12時～）

■と ころ：北海道赤十字血液センター（札幌市西区二十四軒2条1丁目1番20号）

### ■主な変更点

- ・献血会場ではペーパーレスとなり全国最大の電子カルテシステムに
- ・献血時の本人確認方法として指の静脈認証が追加（写真上）
- ・献血バスの受付会場でも問診回答タッチパネルが整備されます（写真下）



生体（指静脈）認証が追加

### ■今後の予定

全国を4つのグループに分け、段階的にシステムを導入します  
全国導入が完了するのは6月25日を予定しています

導 入	5/14(水)	5/28(水)	6/11(水)	6/25(水)
エリア	北海道	九州	西日本	東日本



すべての献血会場に  
問診回答タッチパネルを整備  
（写真は献血ルームの場合）

### ■本件に関するお問い合わせ先

（現地取材受付）北海道赤十字血液センター 企画課（担当：宮崎） TEL:011-613-8335

（問合せ等全般）日本赤十字社 本社 血液事業本部（担当：吉田、千葉） TEL:03-3437-7708

Mail:ketsueki-koho@irc.or.jp

個別検体によるスクリーニング NAT の導入について

1. 個別検体によるスクリーニング NAT (個別 NAT) 導入経緯

平成 20 年に導入した現行システム (試薬・検査機器) の更新に伴い、個別 NAT が世界的に導入されつつあること、試薬の精度及び検査機器の処理能力が高まっていること等から、更なる安全性の向上を目的に、個別 NAT を導入することとした。

なお、検査システムの選定については、世界の市場をほぼ寡占している 2 メーカーの最新の NAT システムについて検査精度、効率性及び費用等を評価し、PANTHER システム (ノバルティス社) とした。

2. 導入効果

(1) 安全性の向上

現行システムと PANTHER システムを比較した場合、個別検体レベルでの検出感度は、ほぼ同等であり、プール検体数が 20 本から個別となることで検出感度は 20 倍上昇する。そのため、ウィンドウ・ピリオドが短縮され輸血を介した HBV、HCV 及び HIV の感染の減少が期待される。

(2) 検査時間の短縮

現行システムでは、血清学的試験を実施後に、NAT 用検体から陽性検体を抜き取り、陰性検体でプール検体を作製し、NAT を実施している。この工程を同検体 1,600 本 (20 本プール検体数: 80 本) で実施する場合、血清学的試験に約 4 時間、陽性検体抜き取り・プール検体作製に約 2 時間、NAT に約 5 時間、合計 11 時間を要する。

PANTHER システムでの個別 NAT は、血清学的試験と並行して検査を行うことができるため、現行システムと同じ時間で 20 倍の検体数を処理することが可能となる。

(3) 危機管理体制の充実

現行の 4 施設から全ての検査施設 (8 施設) に PANTHER システムを導入するため、危機管理体制が充実される。

ア. 現行システムの設置施設と台数

JBPO (北海道)	関東甲信越 BBC (東京都)	近畿 BBC 福知山分室 (京都府)	九州 BBC	計
3 台	5 台	4 台	3 台	15 台

イ. PANTHER システムの設置施設と台数

北海道 BBC	東北 BBC	関東甲信越 BBC	埼玉製造所	東海北陸 BBC	近畿 BBC	中四国 BBC	九州 BBC	計
5 台	4 台	10 台	6 台	6 台	7 台	5 台	6 台	49 台

※中央血液研究所に 1 台整備

(4) 費用

PANTHER システムに係る費用について、現行システムの試薬費用、消耗品の費用及び検査機器の保守費用で比較すると、大きな差はない。また、検査施設数が増えるが、夜間の勤務がなくなること等から人件費も増加しない。

3. PANTHER システムの設置状況と導入スケジュール

平成 26 年 8 月 1 日採血分より導入する。(別添)

4. その他

(1) 安全技術調査会でのご質問

輸血が原因となった感染症報告症例 (HBV) の原因血液について、PANTHER システムによる検査を実施する。

(2) 北海道における試行的 HEV20 プール NAT の個別化への変更について

プール検体によるスクリーニング NAT を終了することに伴い、北海道地域に限定して実施している試行的 HEV20 プール NAT についても、PANTHER システムによる個別 NAT に変更する。



個別NATのためのPANTHER System設置準備計画

PANTHER設置台数



別添

	2014																							
	March			April				May					June				July				August			
	17	24	31	7	14	21	28	5	12	19	26	2	9	16	23	30	7	14	21	28	4	11	18	25
個別NAT実施																							★	
福知山分室				1台	→ 中央血液研究所																			
北海道BBC								5台																
東北BBC				4台																				
関東甲信越BBC			1台													9台								
埼玉製造所														6台										
東海北陸BBC									6台															
近畿BBC					7台																			
中四国BBC			5台																					
九州BBC												6台												

3



資料 7

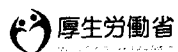
平成26年6月4日  
【照会先】  
医薬食品局血液対策課  
(担当・内線)課長補佐 亀田 (2905)  
血液安全係長 野田 (2914)  
((代表電話)) 03(5253)1111  
((直通電話)) 03(3595)2395

### 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について、平成26年5月30日時点の調査結果の内容は、平成25年6月28日に公表した調査結果からの変更はありません。

なお、現在、再調査を実施中であり、本再調査の集計が完了次第、調査結果を更新する予定です。

(参考)C型肝炎ウイルス検査受診の呼びかけ



〒100-8916 東京都千代田区霞が関1-2-2 電話:03-5253-1111(代表)  
Copyright © Ministry of Health, Labour and Welfare. All Right reserved.