

医薬品 研究報告 調査報告書

識別番号・報告回数		報告日	第一報入手日 2008. 4. 15	新医薬品等の区分 該当なし	機構処理欄
一般的名称	人赤血球濃厚液	研究報告の公表状況	平力造, 伊藤綾香, 沼本高志, 五井薫, 後藤直子, 百瀬俊也, 日野学. 第56回日本輸血・細胞治療学会総会; 2008 Apr 25-27; 福岡.	公表国 日本	
販売名(企業名)	赤血球濃厚液-LR「日赤」(日本赤十字社) 照射赤血球濃厚液-LR「日赤」(日本赤十字社)				
研究報告の概要	<p>○2007年輸血関連感染症報告症例の解析</p> <p>【はじめに】日本赤十字社では、薬事法に基づき収集した副作用・感染症症例を独立行政法人医薬品医療機器総合機構へ報告している。2007年に全国の医療機関から報告された輸血関連感染症例(疑い例を含む)の現状とその解析結果について報告する。</p> <p>【対象と方法】2007年に医療機関から報告された症例を対象とし、ウイルス感染(疑)症例は当該献血者の保管検体の個別NAT等により、細菌感染(疑)症例は当該製剤(使用済みバッグ)又は同一製造番号の凍結血漿の無菌試験等により調査を行い評価した。</p> <p>【結果と考察】2007年輸血関連感染症の報告数は124例(10月末現在)であり、一昨年及び昨年の同期間(2005年229例<年間265例>、2006年162例<年間191例>)に比べ減少傾向にある。その内訳はHBVが61例、HCV32例、細菌24例、その他のウイルスが7例であった。ウイルス感染(疑)症例の調査結果により病原体を確認した症例は、HBVの12例とHCVの1例であった。HBVの10例は献血者と患者のHBV塩基配列の比較により因果関係が高いと評価した。残る2例は、患者のセロコンバージョンによりウイルス遺伝子を確認できなかった症例と、献血者と患者のウイルス遺伝子型が異なっていた症例であった。HCVの1例は医療機関からの自発報告より判明した症例で、献血者と患者のHCVは遺伝子型III(2a)で塩基配列の比較により因果関係が高いと評価した。20プールNAT開始後(2004年8月開始)初めての検出限界以下の献血血液による感染症例であった。細菌感染(疑)例で医療機関での患者血培実施例は24例中22例(91.7%)で、陽性は14例(63.6%)であった。日赤における調査結果は全て適合(陰性)であり、患者血培陽性14例中9例(64.3%)は使用済みバッグにて調査した症例であった。輸血後感染症は種々の安全対策により減少傾向にあるが、残存リスクを考慮しつつ、ヘモビジランスの一環として輸血関連感染症の動向を今後も注視し、解析結果をフィードバックすることにより輸血用血液の安全性向上に資することとしたい。</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			
2007年に全国の医療機関から報告された輸血関連感染症例の現状とその解析結果についての報告である。		日本赤十字社では、HBV、HCV、HIVについて20プールでスクリーニングNATを行い、陽性血液を排除している。また、「血液製剤等に係る遡及調査ガイドライン」(平成17年3月10日付薬食発第0310009号)に基づき、輸血感染症の調査を行っている。輸血感染症に関する新たな知見等について今後も情報の収集に努める。検査精度向上のため、これまでの凝集法と比べて、より感度の高い化学発光酵素免疫測定法(CLEIA)及び精度を向上させた次世代NATの導入を順次進めている。			



P-033 2007年輸血関連感染症報告症例の解析

日本赤十字社血液事業本部

平 力造, 伊藤綾香, 沼本高志, 五井 薫, 後藤直子, 百瀬俊也, 日野 学

TEL: 03-5534-7503 (5406) FAX: 03-5534-3774 E-mail: taira@bs.jrc.or.jp

【はじめに】日本赤十字社では、薬事法に基づき収集した副作用・感染症症例を独立行政法人医薬品医療機器総合機構へ報告している。2007年に全国の医療機関から報告された輸血関連感染症例(疑い例を含む)の現状とその解析結果について報告する。【対象と方法】2007年に医療機関から報告された症例を対象とし、ウイルス感染(疑)症例は当該献血者の保管検体の個別 NAT 等により、細菌感染(疑)症例は当該製剤(使用済みバッグ)又は同一製造番号の凍結血漿の無菌試験等により調査を行い評価した。【結果と考察】2007年輸血関連感染症の報告数は124例(10月末現在)であり、一昨年及び昨年の同期間(2005年229例<年間265例>, 2006年162例<年間191例>)に比べ減少傾向にある。その内訳はHBVが61例, HCV32例, 細菌24例, その他のウイルスが7例であった。ウイルス感染(疑)症例の調査結果により病原体を確認した症例はHBVの12例とHCVの1例であった。HBVの10例は献血者と患者のHBウイルス塩基配列の比較により因果関係が高いと評価した。残る2例は、患者のセロコンバージョンによりウイルス遺伝子を確認できなかった症例と、献血者と患者のウイルス遺伝子型が異なっていた症例であった。HCVの1例は自発報告より判明した症例で、献血者と患者のHCウイルスは遺伝子型III(2a)で塩基配列の比較により因果関係が高いと評価した。20プールNAT開始後(2004年8月開始)初めての検出限界以下の献血血液による感染症例であった。細菌感染(疑)例で医療機関での患者血培養実施例は24例中22例(91.7%)で、陽性は14例(63.6%)であった。日赤における調査結果は全て適合(陰性)であり、患者血培養陽性14例中9例(64.3%)は使用済みバッグにて調査した症例であった。輸血後感染症は種々の安全対策により減少傾向にあるが、残存リスクを考慮しつつ、ヘモビジランスの一環として輸血関連感染症の動向を今後も注視し、解析結果をフィードバックすることにより輸血用血液の安全性向上に資することとしたい。

医薬品 研究報告 調査報告書

識別番号・報告回数		報告日	第一報入手日 2008. 4. 15	新医薬品等の区分 該当なし	機構処理欄
一般的名称	人赤血球濃厚液	研究報告の公表状況	松林圭二, 坂田秀勝, 今絵未, 武田尋美, 阿部生馬, 佐藤進一郎, 加藤俊明, 池田久實. 第56回日本輸血・細胞治療学会総会; 2008 Apr 25-27; 福岡.	公表国 日本	
販売名(企業名)	赤血球濃厚液-LR「日赤」(日本赤十字社) 照射赤血球濃厚液-LR「日赤」(日本赤十字社)				
研究報告の概要	<p>○HEV NAT陽性献血者におけるHEV感染のNatural course</p> <p>【目的】E型肝炎の多くは無症候性で経過するといわれている。しかし、感染初期のウイルス動態や不顕性感染症例の自然経過についてはほとんど知られていない。今回HEV NAT陽性献血者を追跡調査することによりHEV感染のNatural courseについて新しい知見が得られたので報告する。</p> <p>【方法】北海道地区において現行プールNATスクリーニングの残量を用いてTaqMan RT-PCR法によるHEV NATスクリーニングを行った。陽性献血者85例について追跡調査および遡及調査(過去6ヵ月間)を行い、喫食歴や自覚症状の有無等のアンケート調査、HEV抗体測定(Viragent HEV Ab IgM, IgG)、HEV-RNA定量、生化学検査、分子系統樹解析等を行なった。</p> <p>【成績】HEV NAT陽性者のほぼ全員がHEV感染の自覚症状を認めなかった。男性:女性=2:1で、平均年齢は41.2歳であり、GenotypeはG3がG4の16倍と圧倒的に多かった。また、アンケートに回答した陽性者の7割に過去2ヵ月以内の動物内臓肉の喫食歴が認められた。献血時、7割の陽性者がIgM, IgG抗体とも陰性のウインドウ期の献血であり、献血時点から過去6ヵ月以内の献血からはHEV RNAおよび抗体は検出されなかった。一方、追跡調査できたすべてのHEV RNA陽性者においてIgG抗体の陽転が認められたが、その一部については陽性判明時から1年以上経過すると陽性基準を下回る例も認められた。詳細に追跡できた陽性献血者19例のうち9例に軽度のALT上昇が見られた。HEV RNA陽性者のHEV血症状態は献血後最長55日間持続し、HEV(G3)の推定倍加時間は50±12.4時間でHBVとほぼ同等であった。</p> <p>【結論】HEV NAT陽性献血者の多くは動物内臓肉を食してHEVに感染したと考えられる新規感染者であった。感染後、HEVはHBVと同様の倍加速度で緩やかに増殖し、ウイルス血症状態は比較的長期間(約8週間)持続する例もあるが、多くは症状が現れないまま抗体が陽転化し、典型的な無症候性一過性感染の経過をたどった。</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			
<p>北海道のHEV NAT陽性献血者を追跡調査したところ、多くは動物内臓肉を食してHEVに感染したと考えられる新規感染者であり、典型的な無症候性一過性感染の経過をたどったとの報告である。</p>		<p>日本赤十字社では、厚生労働科学研究「E型肝炎の感染経路・宿主域・遺伝的多様性・感染防止・診断・治療に関する研究班」と共同して、献血者におけるHEV感染の疫学調査を行っている。また、北海道における輸血後HEV感染報告を受け、試験的に北海道では研究的NATを行うなど安全対策を実施している。加えて、輸血による肝炎ウイルス感染防止のため、血液中のALT値61IU/L以上の血液を排除している。今後もHEV感染の実態に関する情報の収集及び安全対策に努める。</p>			



O-026 HEV NAT 陽性献血者における HEV 感染の Natural course北海道赤十字血液センター検査部¹⁾, 日本赤十字社血漿分画センター品質管理部検査課²⁾松林圭二¹⁾, 坂田秀勝¹⁾, 今 絵未¹⁾, 武田尋美¹⁾, 阿部生馬²⁾, 佐藤進一郎¹⁾, 加藤俊明¹⁾, 池田久實¹⁾

TEL: 011-613-6634 FAX: 011-613-6221 E-mail: kmatsu@hokkaido.bc.jrc.or.jp

【目的】 E 型肝炎の多くは無症候性で経過するといわれている。しかし、感染初期のウイルス動態や不顕性感染症例の自然経過についてはほとんど知られていない。今回 HEV NAT 陽性献血者を追跡調査することにより HEV 感染の Natural course について新しい知見が得られたので報告する。

【方法】 北海道地区において現行プール NAT スクリーニングの残量を用いて TaqMan RT-PCR 法による HEV NAT スクリーニングを行った。陽性献血者 85 例について追跡調査および遡及調査(過去 6 ヶ月間)を行い、喫食歴や自覚症状の有無等のアンケート調査、HEV 抗体測定 (Viragent HEV Ab IgM, IgG)、HEV-RNA 定量、生化学検査、分子系統解析等を行なった。

【成績】 HEV NAT 陽性者のほぼ全員が HEV 感染の自覚症状を認めなかった。男性：女性=2：1 で、平均年齢は 41.2 歳であり、Genotype は G3 が G4 の 16 倍と圧倒的に多かった。また、アンケートに回答した陽性者の 7 割に過去 2 ヶ月以内の動物内臓肉の喫食歴が認められた。献血時、7 割の陽性者が IgM, IgG 抗体とも陰性のウィンドウ期の献血であり、献血時点から過去 6 ヶ月以内の献血からは HEV RNA および抗体は検出されなかった。一方、追跡調査できたすべての HEV RNA 陽性者において IgG 抗体の陽転が認められたが、その一部については陽性判明時から 1 年以上経過すると陽性基準を下回る例も認められた。詳細に追跡できた陽性献血者 19 例のうち 9 例に軽度の ALT 上昇が見られた。HEV RNA 陽性者の HEV 血症状態は献血後最長 55 日間持続し、HEV (G3) の推定倍加時間は 50 ± 124 時間で HBV とほぼ同等であった。

【結論】 HEV NAT 陽性献血者の多くは動物内臓肉を食して HEV に感染したと考えられる新規感染者であった。感染後、HEV は HBV と同様の倍加速度で緩やかに増殖し、ウイルス血症状態は比較的長期間 (約 8 週間) 持続する例もあるが、多くは症状が現れないまま抗体が陽転化し、典型的な無症候性一過性感染の経過をたどった。

医薬品 研究報告 調査報告書

識別番号・報告回数		報告日	第一報入手日 2008年6月16日	新医薬品等の区分 該当なし	厚生労働省処理欄
一般的名称	人 C1-インアクチベータ	研究報告の公表状況	Contemporary North American influenza H7 viruses possess human receptor specificity: Implications for virus transmissibility Proceedings of the National Academy of Sciences USA (PNAS) May 27, 2008; 105 (21) 7558-7563	公表国 米国	
販売名 (企業名)	ベリナート P (CSL ベーリング株式会社)				
研究報告の概要 19	<p>問題点 (北米の H7 型インフルエンザウイルスはヒトの受容体に特異性があり、ウイルス伝播に影響) ユーラシアや北米で H7 型トリインフルエンザウイルス感染が 2002 年から発生し、オランダ、カナダのプリティッシュコロンビア州、英国で人での感染が確認された。H7 型トリインフルエンザのヒト感染はほとんどが結膜炎で、ヒトからヒトへの感染は稀であった。 H7N7 型は 2003 年にオランダで 80 人以上が感染し、1 人が死亡し、H7N3 型は 2004 年にプリティッシュコロンビア州で 2 例の結膜炎、H7N2 型は 2007 年に英国で多数のインフルエンザ様症状や結膜炎、2003 年にニューヨークで 1 例の気道感染が発生した。 著者らは glycan microarray 法で H7 型のトリインフルエンザウイルスの受容体結合する構造を調べ、またフェレットを用いて感染性を調べた。その結果、2003 年にオランダで発生した高病原性 H7N7 型は、α2-3 結合シアル酸に対する古典的な結合選択性は維持しており、高病原性 H5N1 型と同様にフェレットでの感染は認められなかった。 しかし 2004 年にカナダで分離された H7N3 型と 2002-2003 年に米国で分離された H7N2 型は、ヒト気管上皮細胞に傑出して見られる結合型の α2-6 結合シアル酸に対する親和性を高めた HA を保有している。 著者らは 2003 年にニューヨークの男性から分離された低病原性 H7N2 型はフェレットの上気道で能率的に増殖していて、直接接で感染する能力があることを確認した。 以上のことから、H7 型トリインフルエンザウイルスは、1918 年 (H1N1)、1957 年 (H2N2)、1968 年 (H3N2) に世界的に大流行したヒトインフルエンザウイルスのように、ヒトの間で感染する可能性があることを確認した。</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		
トリインフルエンザウイルスを用いたバリデーションテストで、ウイルスが 60℃10 時間の液状加熱で不活化された報告がある。 万一原料血漿に混入しても本剤の製造工程の 60℃10 時間の液状加熱で不活化されると考えられる。		今後とも新しい感染症に関する情報収集に努める所存である。			

Contemporary North American influenza H7 viruses possess human receptor specificity: Implications for virus transmissibility

Jessica A. Belser^{*†}, Ola Blixt[‡], Li-Mei Chen^{*}, Claudia Pappas^{*}, Taronna R. Maines^{*}, Neal Van Hoven^{*}, Ruben Donis^{*}, Julia Busch[‡], Ryan McBride[‡], James C. Paulson[‡], Jacqueline M. Katz^{*}, and Terrence M. Tumpey^{*5}

^{*}Influenza Division, National Center for Immunization and Respiratory Diseases, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA 30333; [†]Emory University, Atlanta, GA 30322; and [‡]Departments of Physiological Chemistry and Molecular Biology, The Scripps Research Institute, La Jolla, CA 92037

Edited by Peter Palese, Mount Sinai School of Medicine, New York, NY, and approved March 21, 2008 (received for review February 7, 2008)

Avian H7 influenza viruses from both the Eurasian and North American lineage have caused outbreaks in poultry since 2002, with confirmed human infection occurring during outbreaks in The Netherlands, British Columbia, and the United Kingdom. The majority of H7 infections have resulted in self-limiting conjunctivitis, whereas probable human-to-human transmission has been rare. Here, we used glycan microarray technology to determine the receptor-binding preference of Eurasian and North American lineage H7 influenza viruses and their transmissibility in the ferret model. We found that highly pathogenic H7N7 viruses from The Netherlands in 2003 maintained the classic avian-binding preference for α 2–3-linked sialic acids (SA) and are not readily transmissible in ferrets, as observed previously for highly pathogenic H5N1 viruses. However, H7N3 viruses isolated from Canada in 2004 and H7N2 viruses from the northeastern United States isolated in 2002–2003 possessed an HA with increased affinity toward α 2–6-linked SA, the linkage type found prominently on human tracheal epithelial cells. We identified a low pathogenic H7N2 virus isolated from a man in New York in 2003, A/NY/107/03, which replicated efficiently in the upper respiratory tract of ferrets and was capable of transmission in this species by direct contact. These results indicate that H7 influenza viruses from the North American lineage have acquired sialic acid-binding properties that more closely resemble those of human influenza viruses and have the potential to spread to naive animals.

hemagglutinin | transmission | receptor binding | animal model

Avian influenza viruses within the H5 and H7 subtype continue to pose a major public health threat. Since 2004, highly pathogenic avian influenza (HPAI) H5N1 viruses have resulted in >380 cases of laboratory-confirmed human infection in 14 countries (1). Despite the high virulence of H5N1 viruses observed in humans and mammalian models (2), human-to-human transmission has been only rarely documented (3–5). Additionally, influenza H7 subtype viruses within both Eurasian and North American lineages have been responsible for multiple outbreaks and human infections since 2002. These include outbreaks of HPAI H7N7 in The Netherlands in 2003 that resulted in >80 cases of human infection and one fatality; HPAI H7N3 in British Columbia, Canada, in 2004 that resulted in two cases of conjunctivitis; a cluster of human infections of low pathogenic avian influenza (LPAI) H7N2 in the United Kingdom in 2007 that resulted in multiple cases of influenza-like illness and conjunctivitis; and a single case of human respiratory infection in New York in 2003 (6–11). The majority of human infections with H7 influenza viruses have resulted in conjunctivitis, but similar to H5N1 viruses, probable human-to-human transmission among family contacts has been rarely documented through molecular diagnosis (7). Representative viruses isolated from these outbreaks were found to replicate efficiently in the mouse and ferret models, and one virus isolated from a fatal respiratory case during the H7N7 Netherlands outbreak, A/NL/219/03, was highly lethal in both mammalian models

(12, 13). However, further study is needed to assess the pandemic potential of H7 influenza viruses within this subtype.

Influenza virus attachment to host cells is mediated by the virus HA binding to sialic acid (SA) glycans present on host cell surfaces. Avian influenza viruses predominantly bind α 2–3-linked SA, whereas human influenza viruses preferentially bind to α 2–6 SA (14). The three influenza pandemic viruses of the last century, causing the pandemics of 1918 (H1N1), 1957 (H2N2), and 1968 (H3N2), each possessed an HA with a human α 2–6 SA-binding preference yet are thought to have originated from an avian virus possessing the α 2–3 SA-binding preference (15, 16). With few exceptions, avian H5N1 influenza viruses isolated from humans have maintained the classic α 2–3 SA binding (17–20). However, the SA-binding preference of recent H7 influenza viruses associated with disease in humans has not been well studied.

The ferret model has been used successfully to study the transmission of human and avian influenza viruses (21–23), because ferrets exhibit a similar distribution of SA as reported in humans with a higher proportion of α 2–6 SA glycans on upper respiratory tract epithelial cells and α 2–3 SA in the lower respiratory tract (24–27). These studies have shown that avian H5N1 viruses, despite replicating to high titers in the respiratory tract, are not readily transmissible by either respiratory droplet or contact transmission (21). To date, the transmissibility of viruses within the H7 subtype has not been examined experimentally. Here, we use glycan microarray technology to determine the receptor-binding preference of H7 influenza viruses of both Eurasian and North American lineages and assess the transmissibility of selected H7 influenza viruses using the ferret model. Surprisingly, we found that recently isolated H7N2 and H7N3 viruses of the North American lineage possess increased binding to α 2–6 SA, with several strains exhibiting preferential binding characteristic of human influenza viruses. One of these was an H7N2 virus, A/NY/107/03, associated with respiratory disease in an adult male, which we found to be capable of efficient direct contact transmission in the ferret model.

Results

Receptor-Binding Preference of Eurasian H7 Influenza Viruses. Previous studies have elucidated the molecular basis for the receptor-binding preference of influenza viruses of multiple subtypes, in-

Author contributions: J.A.B., T.R.M., J.C.P., J.M.K., and T.M.T. designed research; J.A.B., O.B., C.P., T.R.M., N.V.H., J.B., and R.M. performed research; L.M.C., R.D., and J.C.P. contributed new reagents/analytic tools; J.A.B., O.B., T.R.M., J.C.P., J.M.K., and T.M.T. analyzed data; and J.A.B., J.C.P., J.M.K., and T.M.T. wrote the paper.

The authors declare no conflict of interest.

This article is a PNAS Direct Submission.

Freely available online through the PNAS open access option.

⁵To whom correspondence should be addressed. E-mail: tft9@cdc.gov.

This article contains supporting information online at www.pnas.org/cgi/content/full/0801259105/DCSupplemental.

© 2008 by The National Academy of Sciences of the USA

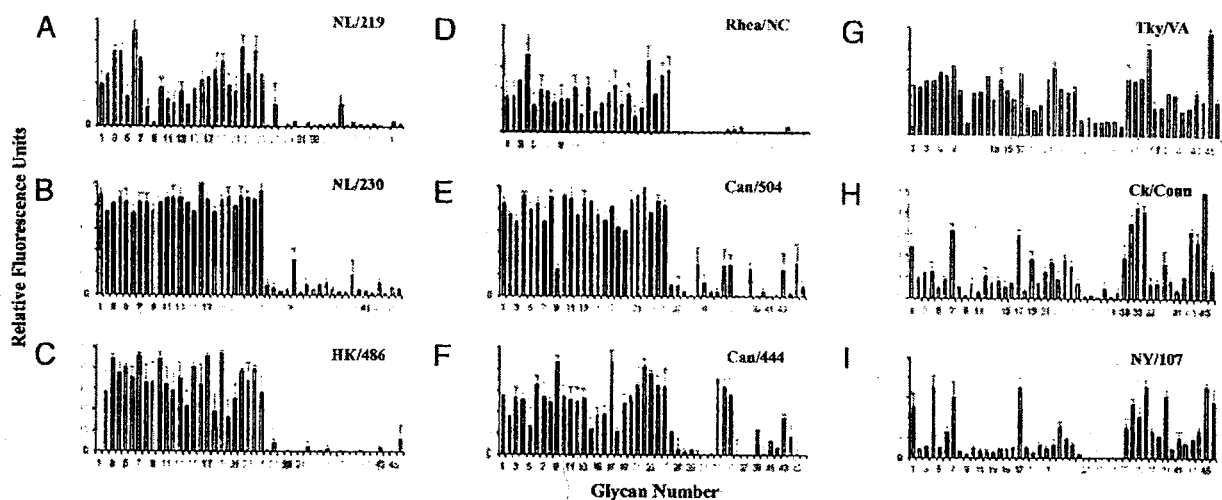


Fig. 1. Glycan microarray analysis of Eurasian and North American lineage H7 influenza viruses. Analysis was performed on the following viruses: NL/219 (A), NL/230 (B), HK/486 (H5N1) (C), Rhea/NC (D), Can/504 (E), Can/444 (F), Tky/VA (G), Ck/Conn (H), and NY/107 (I). The glycan microarray was performed by using whole virus with antisera raised against homologous or cross-reactive virus as a primary antibody. Colored bars highlight glycans that contain α 2-3 SA (yellow) and α 2-6 SA (green). Error bars reflect the standard deviation in the signal for six independent replicates on the array. Structures of each of the numbered glycans are found in Table S1 (SI Text) and for selected glycans in Table 2.

cluding H1, H2, H3, H5, and H9 viruses (15, 16, 28–30). However, recently isolated H7 influenza viruses have not been comprehensively analyzed for their HA-binding preference. We used a glycan microarray with whole virus to determine the α 2-3 and α 2-6 SA-binding preference of Eurasian or North American lineage H7 influenza viruses associated with disease in humans or related viruses isolated from birds. Two HPAI H7N7 Eurasian lineage viruses isolated from an outbreak in The Netherlands in 2003 were tested, A/NL/219/03 (NL/219) and A/NL/230/03 (NL/230). NL/219 was isolated from a human with fatal respiratory disease, whereas NL/230 was isolated from an individual with conjunctivitis (6). Both H7N7 viruses exhibited preferential binding specificity toward α 2-3 SA (Fig. 1A and B). This pattern of binding closely resembles the strong α 2-3 SA-binding preference observed with HPAI H5N1 viruses isolated from humans, as has been reported and is demonstrated here with A/HK/486/97 (HK/486) virus (Fig. 1C) (29). These results were confirmed by hemagglutination assay, with NL/219, NL/230, and HK/486 viruses binding to turkey red blood cells (RBCs) resialylated with α 2-3- but not α 2-6-linked sialosides (Table 1). These findings suggest that HPAI H7N7 Eurasian lineage viruses, similar to HPAI H5N1 viruses, have maintained classic avian specificity for α 2-3 SA despite causing productive infections in humans.

Table 1. Hemagglutination assay of H7 influenza viruses using differentially sialylated turkey RBCs

Virus	Presence or absence of hemagglutination			
	TRBC	α 2-6 RBC	α 2-3 RBC	desial RBC
NL/219	+	–	+	–
NL/230	+	–	+	–
Rhea/NC	+	–	+	–
Can/504	+	+	+	–
Can/444	+	+	+	–
NY/107	+	+	+	–
Tky/VA	+	+	+	–
Ck/Conn	+	+	+	–
HK/486	+	–	+	–
Tx/91	+	+	–	–
PBS	–	–	–	–

Receptor-Binding Preference of North American H7 Influenza Viruses.

H7N2 subtype viruses have been routinely isolated from the live-bird market system in the northeastern United States since 1994 (31). Glycan-binding analysis of A/Rhea/NC/39482/93 (Rhea/NC), a LPAI H7N1 virus isolated in 1993, exhibited a classic avian α 2-3 SA receptor-binding preference (Fig. 1D). However, the more recent H7N2 viruses A/Tky/VA/4529/02 (Tky/VA), which caused a major outbreak among commercial poultry in Virginia and was associated with serologic evidence of human infection (32), and a 2003 H7N2 poultry isolate A/Ck/Conn/260413-2/03 (Ck/Conn), exhibited significantly increased binding to glycans with α 2-6 SA (Fig. 1G and H). A genetically related H7N2 virus isolated from a single case of human respiratory infection in 2003, A/NY/107/03 (NY/107), also exhibited a marked increase in α 2-6 SA binding and reduced binding to glycans with α 2-3 SA (Fig. 1I). Two H7N3 viruses (A/Canada/504/04 and A/Canada/444/04), associated with human conjunctivitis during an outbreak of HPAI in British Columbia (Fig. 1E and F), also revealed increased binding to α 2-6 SA compared with Eurasian lineage viruses (Fig. 1A–C). An assay using resialylated erythrocytes independently documented the dual α 2-6 and α 2-3 SA binding of all H7N3 and H7N2 viruses (Table 1).

More detailed analysis of glycan microarray data revealed that the specificity differences among the H7 viruses was more striking for subclasses of α 2-6 and α 2-3 glycans as summarized in Table 2. Although neither of the Eurasian viruses nor the Rhea/NC virus bound glycans with α 2-6 SA, all of the post-2002 North American viruses exhibited moderate to strong binding to the α 2-6 SA of the biantennary N-linked glycans (nos. 34 and 35). Three viruses, Tky/VA, Ck/Conn, and NY/107, exhibited moderate to strong binding to most glycans with α 2-6 SA, including a glycan with an internal sialic acid (no. 45) not recognized by the other viruses. Although these three viruses were similar in binding α 2-6 SA, they exhibited significant differences in their binding of glycans with α 2-3 SA. Tky/VA bound as well to glycans with α 2-3 SA as the Eurasian viruses. In contrast, Ck/Conn and NY/107 exhibited strong binding to only 4 of the 32 glycans with α 2-3 SA, including two sulfated (nos. 1 and 4), one branched (no. 7), and one linear (no. 17) glycan (Fig. 2 and Table 2). Binding to the remaining glycans with α 2-3 SA was significantly reduced, especially for NY/107. The reduced binding to glycans with α 2-3 SA is notable, because this was a characteristic of influenza viruses with H1, H2, and H3 HAs when first introduced into the human population (15, 16, 28, 33).

Table 2. Comparison of the detailed sialoside receptor specificity of H7 influenza viruses

Virus	α 2–3 sialosides						α 2–6 sialosides		
	Sulfated		Branched	Linear		Fucosylated	Branched	Linear	Internal
NL/219	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-
NL/230	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+/-	+/-	+/-
Rhea/NC	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-
Can/504	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-
Can/444	+++	+++	+++	++	+++	++	++	+	-
Tky/VA	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
Ck/Conn	++	+	++	++	+	++	+++	++	+++
NY/107	+++	+	+++	+++	+	+	++	+	+++

Structures shown in symbol form (see key below) are structures of single glycans or composite structures for chemically related glycans represented by the numbers underneath, which correspond to the numbers in the complete structure list (Table S1) and the glycan microarray data in Fig. 2. Error bars reflect the standard deviation in the signal for six independent replicates on the array. The relative binding of the virus to each glycan subclass is qualitatively estimated based on relative strength of the signal for the data shown in Figs. 1 and 2. Strong (+++), moderate (++) , weak (+) detectable (+/-), absent (-). \blacklozenge , NeuAc; \circ , Gal; \square , GalNAc; \bullet , Glc; \blacksquare , GlcNAc; \circ , Man; \triangle , Fuc

Transmissibility of Eurasian H7 Influenza Viruses in Ferrets. To assess the impact of enhanced α 2–6 SA specificity on the transmissibility of the North American H7 viruses, both respiratory droplet and contact transmission experiments were performed as described (21) by using the ferret transmission model. Six ferrets were inoculated intranasally with 10^7 50% egg infectious doses (EID₅₀), a dose reported to consistently infect ferrets with human or avian influenza viruses (34). Twenty-four hours postinoculation (p.i.), three of the inoculated ferrets were placed in modified cages with a perforated side wall adjacent to a naïve ferret, allowing air exchange

between ferrets while preventing direct contact of animals or indirect contact with food or bedding (respiratory droplet transmission). The remaining three inoculated ferrets were each cohoused with a naïve ferret to assess direct contact transmission. Criteria for efficient transmission included detection of virus in nasal washes (NW) of contact ferrets and seroconversion of convalescent sera from contact ferrets, both of which occur during the efficient transmission of human influenza H3N2 viruses as shown in this model system (21).

NL/219 virus has been shown to be highly virulent in the ferret

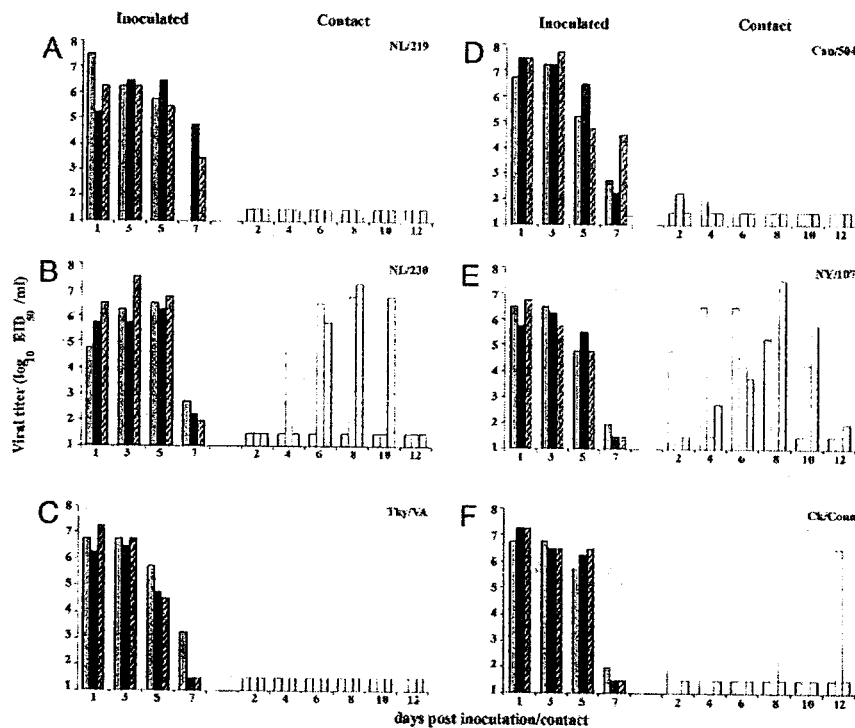


Fig. 2. Direct contact transmissibility of H7 influenza viruses. Three ferrets were inoculated with 10^7 EID₅₀ of NL/219 (A), NL/230 (B), Tky/VA (C), Can/504 (D), NY/107 (E), or Ck/Conn (F) virus, and nasal washes were collected from each ferret on the indicated days p.i. (dark bars). A naïve ferret was placed in the same cage as each inoculated ferret 24 h p.i., and nasal washes were collected from each contact ferret on indicated days p.c. (light bars). The limit of virus detection was $10^{1.5}$ EID₅₀/ml.