

薬事・食品衛生審議会
平成20年度 第1回 血液事業部会運営委員会

議事次第

日時：平成20年5月21日（水）

10:00～12:00

場所：弘済会館 菊（東）、梅（中・西）

東京都千代田区麴町5-1（4F）

議題：

1. 議事要旨の確認
2. 感染症定期報告について
3. 血液製剤に関する報告事項について
4. 日本赤十字社からの報告事項について
5. その他

配付資料：

- 資料 1 平成19年度第5回血液事業部会運営委員会議事要旨（案）
- 資料 2 感染症定期報告について
- 資料3-1 供血者からの遡及調査の進捗状況について
- 資料3-2 血液製剤に関する報告事項について
- 資料3-3 献血件数及びHIV抗体・核酸増幅検査陽性件数
- 資料 4 薬事・食品衛生審議会薬事分科会における利益相反問題への対応について（平成20年4月23日開催薬事分科会委員の審議参加に関する遵守事項説明会配布資料より）
- 資料5-1 フィブリノゲン製剤納入先医療機関の追加調査の結果（中間報告）について（平成20年2月15日公表）
- 資料5-2 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20年5月9日公表）
- 資料5-3 フィブリノゲン製剤をフィブリン糊として使用した可能性のある医療機関について（平成20年4月11日公表）
- 資料5-4 フィブリノゲン製剤をフィブリン糊として使用した可能性のある

医療機関の追加について（平成20年5月9日公表）

- 資料5-5 厚生労働科学研究費補助金厚生労働科学特別研究事業
フィブリノゲン納入医療機関における投与の記録保存の実態に関する研究（平成19年度研究報告書）（平成20年4月22日公表）
- 資料5-6 フィブリノゲン製剤等に関する相談窓口について（平成20年4月25日公表）
- 資料5-7 企業、医薬食品局が保有していた血漿分画製剤とウイルス性肝炎症例等に関する調査の結果について（平成20年4月30日公表）
- 資料5-8 平成13年5月のフィブリノゲン製剤の投与症例3,859症例の報告に関する調査報告書（平成20年4月30日公表）
- 資料5-9 第2回フィブリノゲン製剤投与後の418例の肝炎等発症患者の症状等に関する調査検討会について（平成20年5月15日開催）
- 資料5-10 田辺三菱製薬株式会社におけるフィブリノゲン製剤に係る418症例報告調査プロジェクトチームの活動状況等の報告について（平成20年5月20日公表）
- 資料5-11 C型肝炎訴訟の和解について（平成20年5月20日公表）
- 資料6 遡及対象製剤の処理にかかる過誤について（続報）（日本赤十字社提出資料）

平成19年度第5回血液事業部会運営委員会議事要旨(案)

日時: 平成20年1月23日(水) 10:00~11:50

場所: 霞ヶ関東京會館「エメラルドルーム」

出席者: 高松委員長、

大平、岡田、高橋、花井、山口各委員

(事務局)

新村血液対策課長、植村血液対策企画官、武末課長補佐他

(採血事業者)

日本赤十字社血液事業本部 田所経営会議委員、日野副本部長

- 議 題: 1. 議事要旨の確認
2. 感染症定期報告について
3. 血液製剤に関する報告事項について
4. その他

(審議概要)

議題1について

議事要旨に関する意見等については、事務局まで連絡することとされた。

議題2について

感染症定期報告について、事務局から説明後、質疑応答がなされた。

議題3について

事務局及び日赤から、供血者からの遡及調査の進捗状況、血液製剤に関する報告事項、エイズ動向委員会の資料について説明後、質疑応答がなされた。

議題4について

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

以上

感染症定期報告に関する今後の対応について

平成16年度第5回
運営委員会確認事項
(平成16年9月17日)

1 基本的な方針

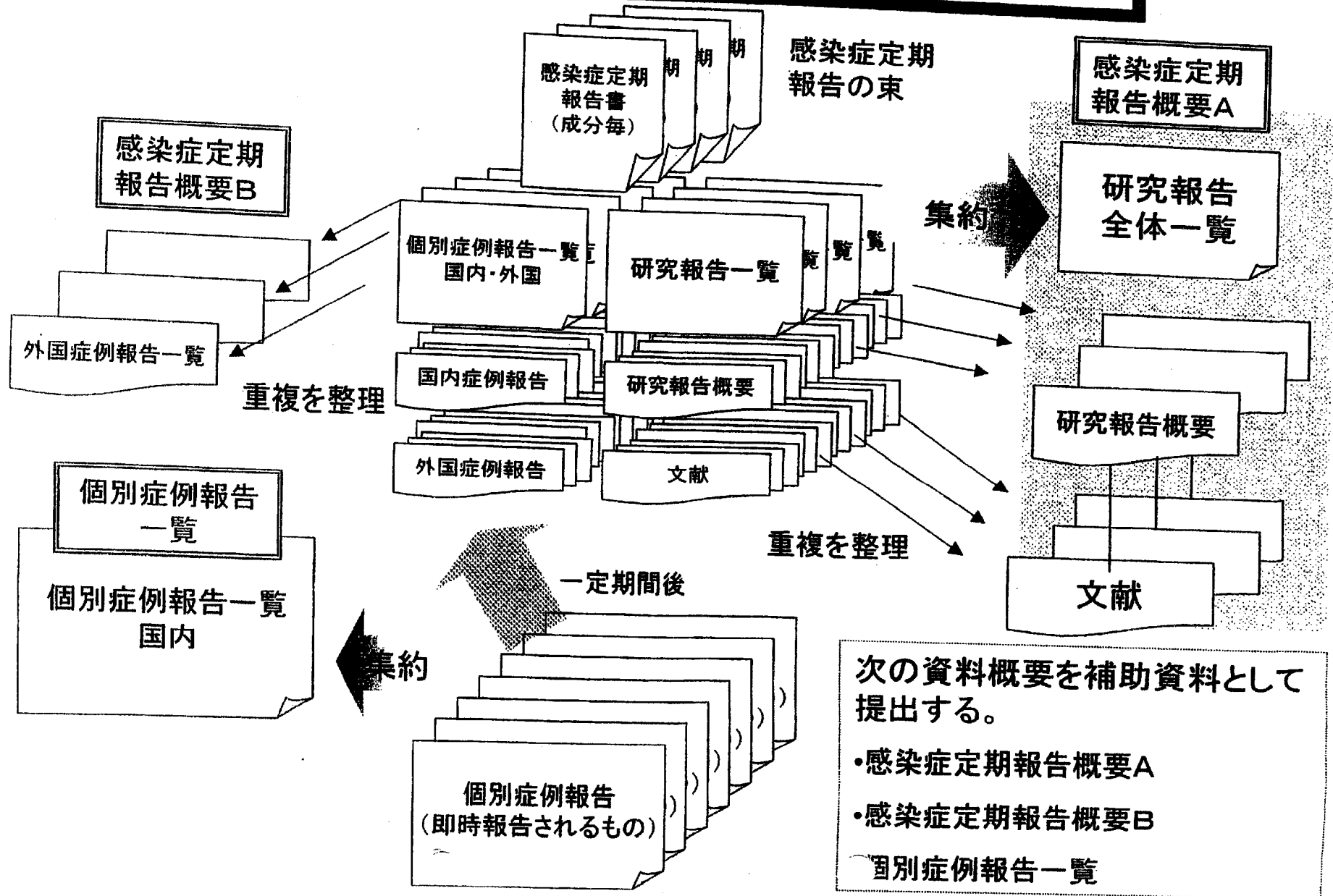
運営委員会に報告する資料においては、

- (1) 文献報告は、同一報告に由来するものの重複を廃した一覧表を作成すること。
- (2) 8月の運営委員会において、国内の輸血及び血漿分画製剤の使用した個別症例の感染症発生報告は、定期的にまとめた「感染症報告事例のまとめ」を運営委員会に提出する取り扱いとされた。これにより、感染症定期報告に添付される過去の感染症発生症例報告よりも、直近の「感染症報告事例のまとめ」を主として利用することとする。

2 具体的な方法

- (1) 感染症定期報告の内容は、原則、すべて運営委員会委員に送付することとするが、次の資料概要を作成し、委員の資料の確認を効率的かつ効果的に行うことができるようにする。
 - ① 研究報告は、同一文献による重複を廃した別紙のような形式の一覧表を作成し、当該一覧表に代表的なものの報告様式(別紙様式第2)及び該当文献を添付した「資料概要A」を事務局が作成し、送付する。
 - ② 感染症発生症例報告のうち、発現国が「外国」の血漿分画製剤の使用による症例は、同一製品毎に報告期間を代表する感染症発生症例一覧(別紙様式第4)をまとめた「資料概要B」を事務局が作成し、送付する。
 - ③ 感染症発生症例報告のうち、発現国が「国内」の輸血による症例及び血漿分画製剤の使用による感染症症例については、「感染症報告事例のまとめ」を提出することから、当該症例にかかる「資料概要」は作成しないこととする。ただし、運営委員会委員から特段の議論が必要との指摘がなされたものについては、別途事務局が資料を作成する。
- (2) 発現国が「外国」の感染症発生症例報告については、国内で使用しているロットと関係がないもの、使用時期が相当程度古いもの、因果関係についての詳細情報の入手が困難であるものが多く、必ずしも緊急性が高くないと考えられるものも少なくない。また、国内症例に比べて個別症例を分析・評価することが難しいものが多いため、緊急性があると考えられるものを除き、その安全対策への利用については、引き続き、検討を行う。
- (3) 資料概要A及びBについては、平成16年9月の運営委員会から試験的に作成し、以後「感染症の報告について(目次)」資料は廃止することとする。

感染症定期報告・感染症個別症例報告の取り扱い



感染症定期報告概要

(平成20年5月21日)

平成19年12月1日受理分以降

- A 研究報告概要
- B 個別症例報告概要

A 研究報告概要

- 一覧表（感染症種類毎）
- 感染症毎の主要研究報告概要
- 研究報告写

研究報告のまとめ方について

1 平成19年12月1日以降に報告された感染症定期報告に含まれる研究報告（論文等）について、重複している分を除いた報告概要一覧表を作成した。

2 一覧表においては、前回の運営委員会において報告したもの以降の研究報告について、一覧表の後に当該感染症の主要研究報告の内容を添付した。

感染症定期報告の報告状況(2007/12/1~2008/2/29)

血対ID	受理日	番号	感染症(PT)	出典	概要	新出文献No.
70171	2007/12/25	70823	A型肝炎	第55回日本ウイルス学会学術集会 2P213	遺伝子型の異なる複数のHAV細胞馴化株における加熱や加圧による不活化効果を検討した。25%アルブミン存在下60℃10時間加熱処理または室温下300~420MPaの1分間加圧3サイクルに対し、HAV細胞馴化株間で不活化効果に差が見られた。Validation試験に使用する株として、加熱や加圧で不活化されにくく細胞で良く増殖するKRM238が適切と考えられた。血液製剤の製造工程に新規不活化法を導入する場合にはValidation試験に使用する株を適切に選定する必要がある。	1
70168	2007/12/20	70810	B型肝炎	Transfusion 2007; 47: 1162-1171	日本赤十字のスクリーニングシステムでHBsAg及び抗B型肝炎コア抗原抗体が陰性であったHBV DNA陽性供血者26名において急性HBV感染におけるウイルスマーカーの動態を調べた。検出可能期間の中央値は、HBV DNAが個別NATで74日、MP NATで50日、HBsAgが42日であった。26名中6名は変異型ウイルスに感染し、うち3名ではHBsAgが検出できなかった。HBV NATは、MPで行ったとしても、HBsAg検査よりも効果的で、HBsAgウインドウ期前後の感染供血者を排除することができる。	
70168	2007/12/20	70810	B型肝炎	Transfusion 2007; 47: 1197-1205	日本赤十字血液センターに保管されている1997-2004年の反復供血者の全供血の遡及調査を行い、ID-NATのみHBV陽性である血液由来の血液製剤の輸血によるHBV伝播リスクを検討した。HBV ID-NATを実施したHBV転換供血者の保管血液15,721本中158検体(1.01%)が陽性であった。スクリーニングをすり抜けたHbc抗体価の低いオカルトHBVキャリア由来の血液製剤を原因とするHBV感染リスクは、HBsAg発現前やMP-NATウインドウ期の輸血による伝播リスクよりも10倍以上低い。	
70168	2007/12/20	70810	B型肝炎	第31回日本血液事業学会総会 2007年10月 3-5日	平成19年3月、輸血によるHBV感染が疑われるとの報告が千葉県赤十字血液センターにあった。因果関係の確認のために実施した当該輸血用血液製剤に係る保管検体個別NATは陰性であり、献血者追跡調査を行った。1名の献血者が平成19年1月にB型肝炎を発症したとの情報が得られ、調べたところ、献血者のHBV-DNAは患者のそれと塩基配列が一致した。20プールNAT陰性、HBV保管検体個別NAT陰性であったが、献血者追跡調査により輸血用血液製剤からのHBV感染が示唆された症例であった。	
70168	2007/12/20	70810	B型肝炎	第31回日本血液事業学会総会 2007年10月 3-5日 一般演題51	2004年8月よりNATスクリーニングのプールサイズを50から20に縮小した。大阪府赤十字血液センターで検出されたHBV-NAT陽性事例81人を基にプールサイズ縮小の効果等について解析を行った。プールサイズ縮小後に100コピー未満/mLのHBV-NAT陽性者の比率が高くなっていることから、縮小による効果があると思われた。追跡調査、遡及調査及び医師の面談等による総合的な解析によりHBV低濃度キャリアが疑われる献血者がプールサイズ縮小後に多く検出されていることが推察された。	
80008	2008/01/25	70856	C型肝炎	Clin Vaccine Immunol published online doi:10.1128	抗HCV抗体陰性で、肝組織中のHCV RNA検出により潜在性HCV感染と診断された110例の患者由来の血清中のGOR抗体反応性を調べた。抗GOR IgG陽性患者は22例(20%)で、慢性C型肝炎患者での陽性率(70/110、63.6%)に比べ有意に低かった。HCVに無関係の肝疾患患者120例では抗GOR IgGは全く検出されなかった。市販の検査でHCV特異抗体を検出できず、血清中HCV RNAが検出できない患者で抗GOR IgG検査を行う事は、肝生検なしで潜在性HCV感染を同定する手助けとなりうる。	2
70168	2007/12/20	70810	E型肝炎	Arch Virol 2007; 152: 1623-1635	日本においてHEVの不顕性感染が増加しているかを調べるため、1991-2006年の献血者のうちHEV感染の可能性のあるALT 61IU/L以上の4019名から得られた血清検体中の抗HEV IgG、抗HEV IgMおよびHEV RNAを調べたところ、2004-2006年の献血者のHEV陽性率は1998年のそれと同等であった。またALT 201IU/L以上の献血者についても1991-1995年、1996-1999年および2004-2006年でHEV陽性率の差は見られなかった。	3
70168	2007/12/20	70810	E型肝炎	J Med Virol 2007; 79: 734-742	日本におけるアラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)高値供血者の無症候性E型肝炎感染の現況を調べた。日本赤十字血液センターでALT高値(61-476 IU/L)の献血者6700名の血清検体を検査したところ、479名(7.1%)の供血者が抗HEV IgG陽性であった。ALT ≥ 201 IU/L群はHEV RNA有病率が有意に高かった。ウイルス血症を発症した供血者9名から得られたHEV分離ウイルスは遺伝子型3に分類された。ALT ≥ 201 IU/Lの日本人の約3%はHEV株の無症候性感染を有することが示された。	

血対ID	受理日	番号	感染症(PT)	出典	概要	新出文献No.
70168	2007/12/20	70810	E型肝炎	Vox Sanguinis 2007; 93(Suppl.1): P203	2005年1月-2006年4月に北海道で献血者のHEV-RNAスクリーニングを行った。388,119名のうち、男性33名(1/7,120)、女性22名(1/6,962)がHEV-RNA陽性で、genotype 3が優勢であった。55名中40名は献血時のHEV抗体陰性であり、後に陽性となった。HEV陽性者にはALT値が上昇した人もいたが自覚症状はなかった。HEV-RNAは献血後、最長37日間検出された。HEV陽性献血者由来の輸血を受けた患者7名のうち、少なくとも2名が感染した。	
70168	2007/12/20	70810	E型肝炎	肝臓 2007; 48(Suppl.1): O-178	発症前からのウイルス血症の推移、肝炎発症から沈静化までの経過を観察しえた輸血後E型肝炎2例の症例報告である。1例は輸血21日目にHEV RNA (genotype 4)が検出され、44日目にピーク値を、もう1例は輸血後3日目にHEV RNA (genotype 3)が同定され、54日目にピーク値を示した。HEVウイルス血症は潜伏期間を経て発現し、対数増殖後約50日前後にピークを示し、その直後にAST、ALT上昇と血中抗HEV抗体の出現を順に認めた。	
70171	2007/12/25	70823	E型肝炎	第55回日本ウイルス学会学術集会 2P207	HEVに感染したブタ糞便より精製した4種のHEVは、ウイルス除去膜 PLANOVA15Nおよび20Nで全て検出限界以下にまで除去された。液状加熱実験では、PBS組成では加熱開始後短時間で全て検出限界以下となったが、アルブミン存在下では4株とも加熱開始後5時間目でも検出された。HEVは熱に弱いと考えられていたが、条件によって不活化効果が異なることから、血液製剤や加工食品において慎重に不活化効果を検討しなければならない。	4
70169	2007/12/20	70811	HIV	Clin Infect Dis 2007; 45: e68-71	ボツワナで急性HIV-1感染スクリーニング中に特定された抗体陰性のHIV-1サブタイプC感染の初の症例を報告する。HIV-1抗体検査の結果は、迅速検査、通常の酵素免疫測定法及びウエスタンブロットで全て陰性であった。遺伝子組換えがないHIV-1サブタイプC感染は、ウイルスのgag、pol及びenv遺伝子のジェノタイプングによって確定された。臨床的に安定した状態からAIDS関連死までの期間は約3ヵ月だった。サブタイプCが優勢なアフリカ南部における血清学検査陰性HIV-1感染の調査の重要性が示された。	
70168	2007/12/20	70810	HIV	Eurosurveillance 2007; 12(5): E070524.5 2007年5月24日	AIDS最新号において、LikataviciusらはEuroHIV surveillance network によるヨーロッパの供血血液のHIV陽性率についての14年間のモニタリングデータを提示した。この分析は、1990-2004年のWHO欧州地域のデータが網羅されている。2000-2004年の10万供血中の平均HIV陽性率は西欧1.7、中欧3.4、東欧36.7であった。1990年以降の変化では、西欧で低下、中欧で横ばい、東欧では急激な上昇が認められた。	
70168	2007/12/20	70810	HIV感染、C型肝炎、B型肝炎	第31回日本血液事業学会総会 2007年10月 3-5日 シンポジウム 4-2	日本赤十字社血液事業本部が関わる安全対策の取り組みと感染症リスクについて報告する。平成16年から18年までの3年間に全国の医療機関から日赤血液センターに報告された輸血関連感染症(疑い症例を含む)の報告数は749例であった。日赤の安全対策の実施によりHBV、HCV及びHIVの感染リスクは減少し、安全性は高くなった。しかし、HCV及びHIVも含め遡及調査の実施により確認された感染症例も少なくない。感染拡大を防止するための安全対策を引き続き講じていく必要がある。	
70168	2007/12/20	70810	ウイルス感染	CDC Press Release 2007年8月22日	米国疾病対策予防センター(CDC)と協力施設の科学者がよく見られるアフリカフルーツコウモリ的一种でマールブルグウイルス感染を特定することに初めて成功した。マールブルグウイルスは、ヒトや霊長類に重篤で死に至ることも多い出血熱を引き起こす。コウモリがマールブルグウイルスを保有することが疑われていたが、証拠はなかった。この研究結果はPlos ONEに掲載された。この研究は、マールブルグウイルスの伝播についてより理解し、ヒトにおける感染拡大を予防・減少させる助力になると思われる。	
70168	2007/12/20	70810	ウイルス感染	J Clin Microbiol 2007; 45: 3008-3014	ヨーロッパでの出血熱は主にPuumalaウイルス(PUUV)またはDobravaウイルス感染による。ドイツ南東部Lower Bavariaでハンタウイルス感染患者31名について、酵素免疫測定法、免疫蛍光法、免疫ブロット法による診断を行った。標準的検査による抗体のPUUV特異的タイピングができない症例が2、3あった。3名の患者の急性期血清から得たPUUV RNAをRT-PCRを用いて増幅したところ、同地域で捕獲したハタネズミから得たウイルス配列と非常に近縁であることが明らかとなった。	
70171	2007/12/25	70823	ウイルス感染	Proc Natl Acad Sci 2007; 104: 11424-11429	マレーシアMelakaで、高熱と急性呼吸器疾患に罹っていた39歳男性から未知のreovirusが分離され、Melaka virusと名づけられた。患者の家族も発症したが、この家族は発症前にコウモリと接触していた。遺伝子配列分析により、Melakaウイルスは1999年に同国Tioman島のフルーツコウモリから分離されたPulauウイルスと密接な関係があることが示された。同島住民の血清スクリーニングで、109例中14例(13%)が両ウイルスに陽性であった。	

血対ID	受理日	番号	感染症(PT)	出典	概要	新出文献No.
70168	2007/12/20	70810	ウイルス感染	ProMED-mail 20070702.2108	2007年6月22日、マイクロネシアのヤップ保健局で集められた血液検体をCDCの研究所で検査した結果、ヤップでの最近の疾病はジカウイルスが原因らしいことが示された。ヤップのアウトブレイクは2007年4月に始まり、5月後半にピークに達し、現在も続いている。症状は斑状丘疹、結膜炎、関節痛など軽症で、4-7日間続く。6月29日現在、42例がPCRとIgM分析によってジカウイルス感染と確定された。死亡例はない。	
70168	2007/12/20	70810	ウイルス感染	ProMED-mail20070930.3228	オーストラリアQueensland州で蚊が異常発生し、ロスリバーウイルスが拡大している。通常は北部の熱帯地域で優勢であるが、Brisbane南部における過去4週間の感染者数は、昨年(2006年)同時期のほぼ450%である。Queensland保健局の発表によると、過去4週間に報告された感染者数は93例であった。	5
70168	2007/12/20	70810	ウイルス性脳炎	Neurology 2007; 69: 156-165	同種造血幹細胞移植(HSCT)後に急性大脳辺縁系脳炎を発症した患者9名の臨床、EEG、MRI、ならびに臨床検査特性を調べた。患者は、順行性健忘、不適切な抗利尿ホルモン分泌症候群、軽度CSF多球症、一時的なEEG異常を特徴とした。MRIでは、T2、FLAIR、DWI画像にて、鈎、扁桃体、内側嗅膵、海馬領域内に高信号域を認めた。PCRを用いた初回腰椎穿刺CSFの検査では9名中6名がHHV6陽性であり、同脳炎はHHV6と関連がある可能性が示唆された。	
70168	2007/12/20	70810	ウエストナイルウイルス	The New York Times 2007年7月26日	米国におけるウエストナイルウイルス症例数は1年前の約4倍であり、大流行がおこる可能性があるとして政府研究者が報告している。昨年は米国で4,269症例が報告され、この中には1,495例の脳症が含まれ、177人が死亡した。今年はこれまで122症例が報告され、カリフォルニア州と南北ダコタ州で最も多いが、昨年の同時期は33例のみであった。今年は既に脳症が42例および死亡が3例ある。	
70168	2007/12/20	70810	ウエストナイルウイルス	第144回日本獣医学会学術集会 2007年9月2-4日	近い将来、日本にも侵入する可能性があるため、日本産蚊の室内継代株を用いてウエストナイルウイルス増殖・媒介能を調べた。アカイエカ、ヒトスジシマカ、オオクロヤブカでウイルス注入実験を、アカイエカ、ヒトスジシマカで吸血実験をしたところ、全種類の蚊においてウイルスの増殖が観察された。媒介試験では、アカイエカ注入、吸血両群、ヒトスジシマカ2系統の注入群、1系統の吸血群では供試したすべてのマウスが12日以内に死亡し、死亡したマウスからはWNVが検出された。	
80010	2008/01/29	70861	エボラ出血	CDC 2008年1月8日	CDCとウガンダ保健省は、2007年8月から始まったウガンダ西部に位置するBundibugyo地区におけるエボラ出血熱のアウトブレイクを報告した。2008年1月3日までに148人が罹患し、37人が死亡した。患者検体の遺伝子解析により、既知の4つのエボラウイルス株と異なる、新たなウイルス株である可能性が示唆された。確定には更なる研究が必要である。	6
70169	2007/12/20	70811	クロイツフェルト・ヤコブ病	2007年プリオン研究会 Poster-20	日本の人口動態統計では、CJDによる死亡は過去20年以上に渡り増加傾向を示し、2005年は人口100万対1.23人であった。CJDサーベイランス委員会による調査では過去8年間に918例がプリオン病と判定された。病型別では、孤発性CJD 716例、遺伝性プリオン病 128例、感染性(獲得性)CJD 72例(変異型CJD 1例、硬膜移植後CJD 71例)、および分類不能 2例であった。	7
70168	2007/12/20	70810	チクングニヤウイルス感染	Eurosurveillance 2007; 12(9): E070906.1	チクングニヤ熱は2005年以来、大規模な流行がインド洋諸島とインドから報告されているが、これまでヨーロッパ地域内での蚊による感染伝播は発生していなかった。2007年8月にイタリアのエミリア・ロマーニャ州ラヴェンナ県衛生当局は異常に多数の発熱患者発生を検知し、臨床・疫学調査を行った。血清学的検査およびPCR法でチクングニヤ熱と確定された。更にヒトスジシマカからもPCR法によりチクングニヤウイルスが確認された。2007年9月4日までに合計197名の患者が報告されている。	
70168	2007/12/20	70810	チクングニヤウイルス感染	Pediatr Infect Dis J 2007; 26: 811-815	チクングニヤウイルス感染が大流行したレユニオン島の5つの新生児医療部門で同ウイルスの母子感染を調べるため、後ろ向き記述的研究を実施した。母親は出産時に徴候があったか又は新生児が出生初日に発病したかをスクリーニングし、新生児38名を登録した。無症候の2名を除き、全母親が周産期(分娩4日前~1日後)に症状があった。全新生児が発熱(79%)、疼痛(100%)などの症状を示し、脳脊髄液のPCR法は24名中22名で陽性であった。高い罹患率の周産期母子伝播の可能性が初めて示された。	

血対ID	受理日	番号	感染症(PT)	出典	概要	新出文献No.
80010	2008/01/29	70861	チクングニヤウイルス感染	PLoS Pathogens 2007; 3: 1895-1906	2005~2006年にレユニオン諸島でアウトブレイクしたチクングニヤウイルス(CHIKV)感染は、エンベロープ蛋白遺伝子の変異株(E1-A226V)が関係していた。この変異の、ネッタシマカおよびヒトスジマカにおけるCHIKV適合性に対する影響を調べた。その結果、CHIKVのヒトスジマカに対する感染性が有意に増加し、哺乳マウスへの伝播がより効率的になることが明らかとなった。通常のベクターであるネッタシマカがいない同地域でCHIKVが大流行したのはこの変異が原因と考えられる。	8
70168	2007/12/20	70810	デング熱	ABC Newsletter 2007年7月20日	オーストラリアのクィーンズランド州北部におけるデング熱アウトブレイクにより、赤十字血液サービスは流行地に滞在した人から供血された血液製剤の廃棄を余儀なくされた。局地的アウトブレイクは3月末にSouth Townsvilleで始まったが、5月14日以降、新規症例は記録されていない。赤十字のスポークスマンによると、供血以前に同地を訪れた供血者由来の赤血球・血小板は破棄するが、血漿は使用できるとのことである。供血制限は、アウトブレイクの終息が正式に宣言されるまで継続される。	
70166	2007/12/17	70803	デング熱	CDC/MMWR 2007; 56(31): 785-789	2005年7月にデング出血熱(DHF)症例1例がTexas州Brownsvilleの住民において報告された。2005年8月に隣接するメキシコTamaulipas州の保健当局はデング熱症例1251例が発生しているデング熱のアウトブレイクを報告し、内223例(17.8%)がDHFであった。臨床的および疫学的調査の結果、同地域でのデング熱アウトブレイクに伴うDHF症例の割合は、2000-2004年はデング熱症例541例中20例(3.7%)であり、増加していることが明らかとなった。	
70168	2007/12/20	70810	デング熱	ProMED-mail20071001.3237	2007年9月30日、中国保健当局はFujian省Putian市で39例のデング熱症例が確定されたと発表した。ベトナムでは2007年9月24日時点で約68000人が感染し、内60名が死亡した。パキスタンでは2007年9月26日、Karachiで新たに22例のデング熱症例が報告された。ラテンアメリカとカリブ海諸国ではデング熱の最悪のアウトブレイクが起こっており、2007年になってから何十万人の人々が関節痛を訴え、約200人が死亡した。	9
70171	2007/12/25	70823	デング熱	Trans R Soc Trop Med Hyg 2007; 101: 738-739	日本人のデング熱患者(28歳、女性)の血漿サンプル中ではなく尿及び唾液液中でデングウイルスを検出することに成功した。発症後7、14および25日目の血漿検体中で抗デングウイルス抗体は同定されたが、デングウイルス遺伝子は検出されなかった。発症後7、8および14日目の尿、ならびに7日目の唾液からデングウイルス1型遺伝子が検出された。現在の研究の結果は、尿及び唾液中のデングウイルス遺伝子の検出が有効な診断方法、特にウイルス性出血の子供の診断方法になりうることを示唆している。	
70168	2007/12/20	70810	デング熱	YAHOO!ニュース 2007年10月14日	台湾南部でデング熱が流行している。台南市当局によると2007年10月13日までに市内で511人の感染者が確認された。隣接する高雄市でも2つの区で集団感染が発生しており、感染の広がりは過去最大規模である。行政と軍が協力して大規模な蚊の撲滅作戦を展開する方針である。	10
70169	2007/12/20	70811	トリパノソーマ症	ABC Newsletter 2007年9月14日	AABBはCDCからAABBシャーガス病バイオビランスネットワーク強化をするための資金を受けている。2007年9月13日現在、710名の反復反応性供血者がT. Cruziに対する抗体の追加RIPA試験を行った結果、196名がRIPA陽性、486名が無反応で、残りは結果がまだ出ていない。13の検査所がシャーガスネットワークにデータを報告し、18の検査所が同ネットワークにアクセスしている。	
70169	2007/12/20	70811	トリパノソーマ症	CMAJ 2007;177: 242	カナダ血液サービスは、2008年後半の血液製剤製造プロセス見直しの際に北緯49度以北では稀にしか見られないシャーガス病のスクリーニングを開始する。2種類のシャーガス病検査法がカナダ保健省の認可を待っている。供血血液の検査実施は、血小板製剤の製造を「パフィーコート」法に切替えてからとなる。メキシコや中南米では800万人~1,100万人がシャーガス病の保因者であり、毎年45,000人以上死亡している。カナダでは、これまでに輸血による感染が2例マントバ州で発生した。	
70169	2007/12/20	70811	トリパノソーマ症	第48回 日本熱帯医学会大会 12C-02	日本におけるラテンアメリカ人の慢性シャーガス病キャリアーからの献血についての対策を検討した。カーミC液(CPD液)を用いてT. Cruzi感染マウス血液を4℃にて1-21日間保存処理を行ったところ、マウスへの感染性は無処理のものと差異は無かったが、病原性はかなり減弱することが示された。しかし、T. Cruzi虫体はほとんどの白血球除去フィルターを通過した。現在の保存血液提供システムはシャーガス病の輸血感染防止には不十分であり、対策の改善が必要である。	11

血対ID	受理日	番号	感染症(PT)	出典	概要	新出文献No.
80007	2008/01/25	70855	パルボウイルス	J Gen Virol 2007; 88: 2162-2167	ヒト血漿プール中に新規のパルボウイルスPARV4とその変異株であるPARV5が存在することが最近示された。4株のPARV4と2株のPARV5のDNA配列を分析したところ、PARV5はPARV4と同様に2つのオープンリーディングフレームを持ち、PARV4とPARV5は92%近くのヌクレオチド相同性を示した。両者は密接な関係のあるジェノタイプであり、ジェノタイプ1と2(PRV5と呼ばれていたもの)から成るPARV4という1つのウイルス名を使用することを提案する。	
70169	2007/12/20	70811	パルボウイルス	Transfusion 2007; 47: 1756-1764	米国の血液センター施設において2000-2003年の期間に採取した5020名の供血者由来の保存血漿検体を高感度PCRスクリーニング法を用いてパルボウイルスB19 DNAについて検査した。B19 DNA陽性率は0.88%であった。DNA陽性検体の全てがIgG陽性で、23%がIgM陽性であった。IgM血清陽性率はDNA値と関連した。	12
70171	2007/12/25	70823	パルボウイルス	Transfusion 2007; 47: 883-889	1993-1998年及び2001-2004年の間に製造された6つの第Ⅷ因子濃縮剤の284ロットについて、in-house NAT法によりパルボウイルスB19 DNAを測定し、抗B19 IgGも併せて測定した。その結果、B19 NAT非スクリーニング血漿から調製した製剤のB19 DNAの陽性率及びレベルは高かったが、製造方法が異なると、製品間で様々であった。血漿のB19 NATスクリーニングは、最終製品中のB19 DNAレベルを下げ、大半の例で検出限界以下とさせ、B19伝播のリスクを減少させた可能性がある。	
80008	2008/01/25	70856	パルボウイルス	Transfusion 2007; 47: 1765-1774	B19ウイルスの不活性化機構を調べた。熱または低PHIによるB19Vの不活性化はカプシド分解によるものではなく、感染性ピリオンがDNA枯渴カプシドへ変換することによって起こった。DNA枯渴カプシドは感染性はないが、標的細胞に接着することは可能であった。Parvoviridaeの他のウイルスとの比較試験の結果、被殻状態でのB19V DNAの著しい不安定性が明らかとなった。B19Vが不活化処理に抵抗性が低いのはこのためと考えられる。	13
80002	2008/01/23	70844	パルボウイルス	Vox Sanguinis 2007; 93: 341-347	過去30~35年間に製造された第Ⅷ因子製剤中にヒトパルボウイルスが存在するかを調べた。175ロットのうち28ロットがPARV4シークエンスを含み、その内2ロットにジェノタイプ1型及び2型の両方が存在した。最大ウイルス量は 10^5 copies/mL以上であった。PARV4陽性の第Ⅷ因子製剤の大部分は1970年代及び1980年代に製造されていた。B19Vは175ロット中70ロットで陽性であった。	14
70171	2007/12/25	70823	ヒトポリオーマウイルス感染	J Virol 2007; 81: 4130-4136	ヒトの気道からの検体をウイルススクリーニングし、KIポリオーマウイルスと暫定的に名付けた未知のポリオーマウイルスを同定した。このウイルスは、遺伝子のearly領域では、他の霊長類のポリオーマウイルスに系統遺伝学的に近縁であるが、late領域では、既知のポリオーマウイルスに対して相同性が少ない(アミノ酸同一性30%未満)。このウイルスは、PCRによって、鼻咽頭吸引物637例中6例(1%)と便検体192例中1例(0.5%)で検出されたが、尿及び血液検体では検出されなかった。	
70171	2007/12/25	70823	ヒトポリオーマウイルス感染	PLoS Pathogens 2007; 3: 595-604	急性呼吸器感染症に罹った患者からの呼吸分泌物中に存在する新規のポリオーマウイルスを同定し、WUウイルスと名付けた。WUウイルス遺伝子は5229bpで、Polyomaviridaeファミリーの特徴を持つ。系統遺伝学的分析から、このWUウイルスは、既知の全てのポリオーマウイルスとは異なっていることが明白となった。オーストラリア及び米国の急性呼吸器感染症患者2135例中43例からWUウイルスが検出され、地理的に広く分布していることが示唆された。	
70169	2007/12/20	70811	マラリア	ABC Newsletter 2007年7月6日	FDAは、初めて認証された米国のマラリア用迅速テスト、Binax NOWマラリア検査の使用を許可した。同検査は、非常に迅速で使用が簡便で、全血検体をディップスティックに2、3滴つけて15分後には結果が得られる。検査結果の確定には標準的顕微鏡検査法を用いなければならない。米国外のマラリア流行地域で行った多施設試験において、標準的顕微鏡診断と比較して当該検査の正確度は95%であった。	
70169	2007/12/20	70811	マラリア	ProMED-mail20070501.14	ジャマイカ保健省によると、2007年4月の1ヶ月間に新規のマラリア症例11例が報告された。内2例はメスのハマダラカが媒介する熱帯熱マラリア原虫によるものであった。また、2006年12月に最初の症例が報告されて以降、輸入感染症例が7例あった。2007年4月1~21日の間に実施された884検体の検査の結果、血液検体陽性率は0.7~1.8%で減少を続けている。最近、Anopheles albimanus蚊がマラチオン殺虫剤に耐性を示し始めたことが確認されたため、感染拡大を防ぐために代替りの殺虫剤を探している。	

血対ID	受理日	番号	感染症(PT)	出典	概要	新出文献No.
70169	2007/12/20	70811	マラリア	Vox Sanguinis 2007; 93(Suppl.1): P239	韓国における輸血によるマラリア感染の発生について調査した。マラリア診断前6ヶ月間以内に供血を行った供血者は、2005年5月～2006年8月の三日熱マラリア患者2056名中46名(2.2%)であった。46名の保管血液51検体についてPCRを実施し、PCR陽性の血液成分を輸血された全受血者を調査したところ、1名の受血者に輸血によるマラリア伝播が確認された。PCRに基づくマラリア選及調査は、輸血によるマラリア伝播の特定に役立つ。	
70169	2007/12/20	70811	リケツチア症	Jpn J Infect Dis 2007; 60: 241-243	血清学的、微生物学的に確定された日本紅斑熱の初めての死亡症例を報告する。淡路島在住の77歳男性で、2005年9月2日に食欲低下を呈し、翌日、下腿に皮疹が出現、4日目に38.7℃の高熱、歩行障害、構音障害が出現、肝機能障害が急速に進行し、DIC、消化管出血により8日目に死亡した。右肩にダニ刺し口があった。血液よりDNAを抽出し、PCRを実施したところ、塩基配列はR. japonicaと100%一致した。日本紅斑熱は増加傾向にあり、注意が必要である。	
70169	2007/12/20	70811	リケツチア症	朝鮮日報 2007年8月21日	韓国では最近ツツガムシ病の患者が急増している。2007年8月20日、疾病管理本部の発表によると、2002年に1,919人だったツツガムシ病の患者数が、04年は4,698人、06年には6,420人に増加したことが分かった。1993年末に法定伝染病に指定されて以来、患者数は実に25倍以上増加した。ツツガムシ病は、主に9月以降、ツツガムシ菌に感染したツツガムシ(ダニの一種)の幼虫に刺されることにより感染する。10日間程度の潜伏期を経ると、突然高熱が発生し、目の充血、頭痛、筋肉痛、発疹などの症状が現れる。	
80027	2008/02/27	70934	リンパ性脈絡髄膜炎	N Engl J Med 2008; 358 10.1056/NEJMoa073785	オーストラリアで一人のドナーから臓器移植を受けた3例が移植後4-6週後に死亡した。他のいかなる方法でも原因不明であったが、2例のレシピエントの移植肝および腎から得られたRNAを公平な迅速シーケンシングで解析することにより、リンパ性脈絡髄膜炎に関係する新規のアレナウイルスが原因であることが明らかとなった。レシピエントの腎、肝、血液および脳脊髄液からこのウイルスが検出され、また免疫組織学的および血清学的に確認された。この方法は病原体発見の強力な手段である。	15
70169	2007/12/20	70811	異型クロイツフェルト・ヤコブ病	2007年プリオン研究会 Poster-38	BSE感染ウシ由来の脳乳剤を用いてPrPresのin vitro感染系の確立を試みた。感染させたヒト由来グリオーマ細胞株から抗プリオン抗体に反応する約30KのPK耐性のバンドが検出された。このバンドは非感染細胞には存在しなかった。また、9ヶ月継代した感染細胞の培養上清に伝達性があることが明らかとなった。さらに20nmのウイルス除去膜によって培養上清の伝達性が減少することが認められた。	16
70168	2007/12/20	70810	異型クロイツフェルト・ヤコブ病	ABC newsletter 2007年5月4日	イスラエルで血液事業を行っているMagen David Adomは、変異型クロイツフェルト・ヤコブ病(vCJD)に関する供血延期基準を変更し、1980年以降にフランス居住歴がある人の供血を可能とした。1980年から10年間のうちにイギリス、アイルランド、ポルトガルに居住歴のある人は、引き続き供血禁止となる。また、輸血を受けた人、B型肝炎やC型肝炎患者と一緒に住んでいた人、入れ墨を入れた人、内視鏡検査を受けた人、未検査の動物に噛まれた人の供血延期期間を短縮した。	
70168	2007/12/20	70810	異型クロイツフェルト・ヤコブ病	Biologicals 2007; 35: 79-97	ドイツにおいて、vCJDが血液供給へ及ぼす影響について実際の集団データを基にモデル計算を行ったところ、輸血を介した伝播がvCJDを永続化するような可能性はなかった。更に、受血経験者を供血から排除しても輸血の安全性向上にはほとんど寄与しないが、血液供給には多大な影響を及ぼすと考えられた。そのためドイツにおいては受血経験者の除外は推薦されなかった。	
70171	2007/12/25	70823	異型クロイツフェルト・ヤコブ病	Biologicals 2007; doi:10.1016/j.biologics.2007.04.005	異なるポアサイズのウイルス除去膜を使用し、異なる処理を行ったスクレーピープリオン蛋白(PrPSc)の除去能力を評価した。超音波処理により粒子径分布を最適化するように調製した263K MFをスパイク物質として使用したときは、75nmのろ液中にPrPScが検出された。15nmのろ過のみが全ての条件でウエスタンブロット法の検出限界以下までPrPScが除去されることが示された。しかし、1条件下の15nmろ液のバイオアッセイの結果では、感染性PrPScが確認された。	
70171	2007/12/25	70823	異型クロイツフェルト・ヤコブ病	FDA/CBER 2006年11月7日	英国血漿由来の第XI因子製剤が、1989-2000年に米国で50名以下の患者に使用されたと推定される。モデルを用いたリスク評価の結果、1998年まで第XI因子製剤を製造するために使用された血漿プールの1.6%~50%がvCJD病原体を含んでいる可能性があった。しかし、これまで血漿由来製剤の投与を受けた患者において、世界中で一歩もvCJDの症例は報告されていない。製造工程におけるvCJD除去、使用量、曝露経路および英国ドナーのvCJD有病率がリスクに影響を与える重要な因子である。	

血対ID	受理日	番号	感染症(PT)	出典	概要	新出文献No.
70171	2007/12/25	70823	異型クロイツフェルト・ヤコブ病	PLoS Pathogens 2007; 3: 659-667	経口的又は非経口的にスクレイパーを投与したハムスターの皮膚にPrPScが沈着するかを調べた。経口摂取したハムスターでは発症前にPrPScが検出され、発症時にはPrPScの蓄積がみられた。PrPScは皮膚の角化細胞ではなく神経線維に局在し、皮膚におけるPrPScの沈着は感染経路やリンパ組織感染に依存しなかった。神経が介在する遠心的な皮膚へのプリオン拡大が示された。更に、スクレイパーに自然感染したヒツジを調べたところ、5頭中2頭の皮膚検体中にPrPScが検出された。	
70168	2007/12/20	70810	異型クロイツフェルト・ヤコブ病	Prion 2007 P04.102 2007年9月26-28日	1987年6月から1998年9月にかけて出荷された計175バッチの血漿製剤中に、後にvCJDと診断された11名からの供血が含まれていたが、これらの製品に関係したvCJD症例は今までのところ全く報告されていない。これは赤血球輸血によると思われるvCJD感染が3例あることと対照的である。血漿分画製剤の製造工程によるプリオン除去効果を調べたところ、2.7~11.5log以上の除去能があることが明らかとなった。	17
70168	2007/12/20	70810	異型クロイツフェルト・ヤコブ病	Prion 2007; 2007年9月26-28日 Edinburgh P04.51	73歳の受血者で生前に特定されたvCJDの非典型的な症状の報告である。患者は1997年12月に輸血を受けたが、供血後にvCJDを発症した供血者由来の赤血球製剤であった。輸血から6年後、受血者は疲労及び集中困難を訴えたが、神経学的検査及び脳MRIは正常であった。この6ヵ月後に神経学的症状が発現し、進行したが、血清学的検査は正常であった。MRIでは視床背側核全体の顕著な信号変化が示された。vCJDの長期潜伏期間と無症候状態は、重大な公衆衛生問題を提示する。	
70168	2007/12/20	70810	異型クロイツフェルト・ヤコブ病	Proc Natl Acad Sci 2007; 104: 10998-11001	アミロイドを含有するフォアグラにアミロイド促進因子(AEF)活性があるかを調べた。市販のフォアグラから抽出したアミロイドA蛋白含有フィブリルを、二次性アミロイドーシスを起こすトランスジェニックマウス9匹に静脈内投与したところ全例で、また経口投与した場合は8匹中5匹でアミロイドの組織沈着が見られた。一方、対照群では全く組織沈着は見られなかった。加熱によりフォアグラのAEF活性は弱まったが、消失しなかった。アミロイドーシスは伝播性で、プリオン関連疾患の感染性と類似する可能性がある。	
70168	2007/12/20	70810	異型クロイツフェルト・ヤコブ病	SEAC/Position Statement 2007年6月13日	英国保健省はSEACに歯科治療処置を介したvCJD伝播のリスク概算を目的とした初期研究の知見についての助言を求めた。初期研究では、歯科処置によるvCJD伝播のリスクが予想より高いことが示唆された。ガイダンスは今年初め歯髓治療用器具の使い捨てを勧告した。公衆衛生上の影響についてのより綿密な考察と、さらなるリスク減少手段の特定のため、全ての歯科治療のリスクについて詳細で包括的な評価を早急に行うことも重要である。	
70171	2007/12/25	70823	肝炎	Med Mol Morphol 2007; 40: 23-28	ALTが高く、HCV抗体とB型肝炎表面抗原が陰性である供血者からの血漿検体中のウイルス様粒子(VLPs)を視覚的に捉えようと試み、また、このVLPsと非経口的に感染するGBV-C/HGVの遺伝子との関係を調べた。その結果、循環血液中のVLPsの検出率は、有意にALTレベル上昇と関係(P<0.001)していたが、VLPsを含む血漿のいずれにも、GBV-C/HGV RNAは検出されなかった。電子顕微鏡で球状のVLPsが確認され、それらが非B非C型肝炎に関係していることが示唆された。	
80007	2008/01/25	70855	寄生虫感染	Int J Med Microbiol 2007; 297: 197-204	ドイツにおけるヒトバベシア症の初めての症例を報告する。患者は結節性リンパ球性ホジキンリンパ腫が再発し、脾臓摘出されたドイツ人の63歳男性で、リツキシマブ投与後、貧血とヘモグロビン尿による暗色尿のため入院した。末梢血塗抹標本で梨状の寄生虫赤血球封入体が確認されバベシア症と推定され、Babesia特異的18S rDNA PCRによって確認された。シーケン分析によりEU1と99.7%の相同性があり、EU3と名づけられた。寄生虫が消えるまでにはatovaquoneによる長期治療を要した。	
70169	2007/12/20	70811	結核	Emerg Infect Dis 2007; 13: 380-387	第二選択抗結核剤6クラスのうち3つ以上に耐性を示す多剤耐性結核を広範囲薬剤耐性結核(XDR TB)と定義し、2000年~2004年のSupranational Reference Laboratoriesのネットワークを調査した。48カ国からのMycobacterium tuberculosis分離株17,690のデータが提供され、多剤耐性分離株3,520のうち、347(9.9%)がXDR TBであった。	
70169	2007/12/20	70811	細菌感染	ABC Newsletter 2007年9月21日	FDAは輸血前の血小板中の細菌汚染を検出するための初めての迅速検査を販売承認した。Verax Biomedical Inc 製造のPlatelet Pan Genera Detection Test Systemは病院の輸血部で使用するための使い捨て検査機器である。	18

血対ID	受理日	番号	感染症(PT)	出典	概要	新出文献No.
70169	2007/12/20	70811	細菌感染	American Society for Microbiology 107th Annual Meeting; L-004 2007年5月21-25日	日本の三次医療施設である自治医科大学病院(病床数1082床)において、2006年4月1日～8月31日に、患者28名の血液培養からBacillus cereusが検出された。リネン類の汚染と末梢静脈ラインの不適切な取り扱いが原因であると考えられた。一時的にリネン類のオートクレーブ処理を行い、洗濯機を洗浄し、末梢静脈ライン管理について職員の教育を行ったことで、B. cereus陽性血液培養はその後検出されなかった。	
70169	2007/12/20	70811	細菌感染	Clin Infect Dis 2007; 44: 1408-1414	2005年3月、米国ネブラスカ州の病院で複数の病室において、無針静注カテーテルコネクターバルブが導入された時期に血流感染の急激な増加が見られた。一次血流感染について調査を行ったところ、一次血流感染と無針静注カテーテルコネクターバルブの使用との間に有意な関連性が認められた。細菌培養を行った37個のバルブのうち24.3%から微生物が検出され、主にコアグラウゼ陰性ブドウ球菌であった。無針コネクターバルブの評価には市場導入前に感染リスクの査定を含めるべきである。	
70169	2007/12/20	70811	細菌感染	Transfusion 2007; 47: 1134-1142	アメリカ赤十字で2004年3月1日～2006年5月31日の期間に1,004,206例の供血で細菌培養検査が行われ、その内186例が陽性であった。関連するアフエーシス血小板293製剤のうち1件を除くすべての輸血が回避された。両腕法を用いて採取した場合の細菌培養陽性率は、片腕法と比較して有意に高かった。また、スクリーニング陰性の製剤に関係した敗血症性輸血反応が20例(うち死亡3例)報告されたが、両腕法を用いて採取した場合の頻度は片腕法と比較して4.7倍であった。	
80024	2008/02/22	70921	人畜共通感染症	Vet Microbiol 2004; 104: 113-117	異なった地域のブタから収集された血清検体のうち66.2%(102/154)でブタTTウイルスDNAが検出された。ブタTTウイルス自体はブタで発現する疾患との関連は知られていないが、他の病原体と共感染した場合に疾患を増悪させる可能性は否定できない。ブタ臓器などを使用した異種移植の際のヒトへの影響が懸念される。	
80026	2008/02/27	70933	鳥インフルエンザ	China View, www.chinaview.cn 2008-01-10	2007年12月に江蘇省南京で発生した52歳男性の鳥インフルエンザ感染患者は、患者であった息子との濃厚な接触により感染したものであり、ウイルスの変異は認められていない。しかし、息子と父親はいずれも死亡した家禽との接触がないため、息子の感染源は明らかになっていない。息子は11月24日に発症し、12月2日に死亡し、父親は12月3日に発症したが回復した。ヒト用トリインフルエンザワクチンは臨床試験Phase IIの段階にある。	19
70171	2007/12/25	70823	鳥インフルエンザ	Emerg Infect Dis 2007; 13: 1081-1083	高病原性鳥インフルエンザウイルス(H5N1)を含むインフルエンザウイルスが、血液安全性の脅威となるおそれがある。ミニプール核酸増幅法を用いて10,272例の血液ドナー検体を分析した。この検査法の測定感度は、一般的インフルエンザウイルス用プライマーについては804 geq/ml、インフルエンザ(H5N1)サブタイプ特異的プライマーでは444 geq/mlであった。インフルエンザウイルスに対して、このようなスクリーニング検査が可能であることが示された。	
80001	2008/01/11	70841	鳥インフルエンザ	Emerg Infect Dis 2007; 13: 1348-1353	2006年5月にインドネシアのスマトラ北部でおよび2005年12月にトルコ東部の家族で観察されたトリインフルエンザH5N1の集団が、ヒト-ヒト伝播によるか否かを統計的方法を用いて調べた。スマトラの例ではヒト-ヒト伝播の統計学的エビデンスが見られ、概算された2次感染率は29%、局所的増殖数の下限値は1.14であった。トルコの例ではヒト-ヒト伝播のエビデンスは得られなかった。	
80001	2008/01/11	70841	鳥インフルエンザ	Lancet 2007; 370: 1137-1145	H5N1インフルエンザウイルスに感染した男性1名および妊婦1名とその胎児の剖検組織を調べた。肺のII型上皮細胞、気管の上皮細胞、リンパ節のT細胞、脳の神経細胞及び胎盤のホフバウエル細胞と細胞栄養層でウイルス遺伝子配列と抗原が検出され、腸粘膜ではウイルス遺伝子配列のみが検出された。胎児では肺、末梢単核細胞、肝マクロファージに遺伝子配列と抗原が検出された。本ウイルスは肺だけでなく気管に感染し、脳を含む他の器官に拡がり、また胎盤を通過し、母親から胎児にも伝播しうる。	
70168	2007/12/20	70810	日本脳炎	Epidemiol Infect 2007; 135: 974-977	2004年11月から2005年2月にかけて、日本の西部に位置する広島県の野生イノシシから血清25検体を採取した。日本脳炎ウイルス(JEV)に対する抗体検査を、IgMキャプチャー及びIgG酵素免疫測定法(ELISA)、並びにプラーク減少中和試験により行った。17検体(68%)がJEV中和抗体陽性だった。中和抗体陽性検体は全てIgG-ELISA陽性だった。1検体はIgMも陽性だった。約70%の野生イノシシが抗JEV抗体陽性であることが示され、この地域のJEV感染サイクルに関与している可能性が提示された。	

血対ID	受理日	番号	感染症(PT)	出典	概要	新出文献No.
70168	2007/12/20	70810	麻疹	asahi.com 2007年4月18日	東京都や埼玉県など関東地方ではしかが流行していることが、国立感染症研究所感染症情報センターがまとめた定点調査でわかった。例年より流行は早く、人の移動が活発になる連休に向けてさらに広がることが予想されるとして、同センターは緊急情報を出して注意を呼びかけている。同センターによると、例年、はしかの発症は乳幼児に多いが、今年の流行は10代前半や大人に多いのが特徴という。	

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 2007年10月21日	新医薬品等の区分 該当なし	厚生労働省処理欄
一般的名称	①ポリエチレングリコール処理抗破傷風人免疫グロブリン ②乾燥抗破傷風人免疫グロブリン		研究報告の 公表状況	第 55 回日本ウイルス学会学 術集会 2P213	公表国 日本	使用上の注意記載状況・ その他参考事項等
販売名 (企業名)	①テタノブリン-IH (ベネシス) ②テタノブリン (ベネシス)					
研究報告の概要	<p>【目的と意義】 A 型肝炎ウイルス (HAV) はエンベロープがなく、血液製剤の不活化処理で不活化されにくい。外国では血液製剤を介して HAV に感染した事例があり、製造工程における安全対策上重要なウイルスである。一般に血液製剤の Validation 試験では HAV 細胞馴化株が使用されるが、馴化株には多くの遺伝子変異が見られることから、株間で不活化処理に対する感受性の異なる可能性がある。既に我々は、熱抵抗性に変化の生じることを報告した (戸塚敦子等、第 45 回ウイルス学会)。今回、Validation 試験に適切な株を選別することを目的として、血液製剤の製造工程でよく使われている加熱処理と、広範囲の病原体不活化が期待される新規不活化法である加圧処理とを試み、遺伝子型の違う複数の HAV 細胞馴化株間で不活化効果に差異があるか検討した。</p> <p>【材料と方法】 HAV 細胞馴化株は、KRM238、KRM003 (遺伝子型 IIB)、KRM031 (IA 型)、TKM005 (IB 型) を使用した。ウイルス感染価は、HAV に感染した GL37 細胞を免疫染色法にて測定した。加熱処理は、25%アルブミンに HAV を添加し 60℃で 1~10 時間加熱した。加圧処理は、室温下で 300~420MPa の 1 分間加圧の後減圧するサイクルを 3 回繰り返した。</p> <p>【結果】 60℃10 時間加熱処理において、KRM003 と KRM031 は約 5log の感染価低下が認められたのに対し、他の 2 株は約 3log の低下であった。また 420MPa 加圧処理において、KRM031 は約 5log の低下が認められたのに対し、他の 3 株は約 3log の低下であった。加熱処理と加圧処理の其々に不活化され易い株とされにくい株があり、両者で約 2log の差異があった。</p> <p>【考察】 HAV 細胞馴化株間で不活化効果に差異があることを明らかにした。TKM005 は他株より細胞で増えにくいことを考慮すると、Validation 試験に使用する株として、加熱や加圧で不活化されにくく細胞で良く増殖する KRM238 が適切であると考えられた。また、血液製剤の製造工程に新規不活化法を導入する場合には、従来法で不活化されにくい株が、新規不活化法にも抵抗性であるとは限らないため、Validation 試験に使用する株を適切に選定して不活化評価を慎重に行う必要がある。</p>					代表としてテタノブリン-IH の記載を示す。 2. 重要な基本的注意 (1) 本剤の原材料となる血液については、HBs 抗原、抗 HCV 抗体、抗 HIV-1 抗体、抗 HIV-2 抗体陰性で、かつ ALT (GPT) 値でスクリーニングを実施している。更に、プールした試験血漿については、HIV-1、HBV 及び HCV について核酸増幅検査 (NAT) を実施し、適合した血漿を本剤の製造に使用しているが、当該 NAT の検出限界以下のウイルスが混入している可能性が常に存在する。本剤は、以上の検査に適合した高力価の破傷風抗毒素を含有する血漿を原料として、Cohn の低温エタノール分画で得た画分からポリエチレングリコール 4000 処理、DEAE セファデックス処理等により抗破傷風人免疫グロブリンを濃縮・精製した製剤であり、ウイルス不活化・除去を目的として、製造工程において 60℃、10 時間の液状加熱処理及び濾過膜処理 (ナノフィルトレーション) を施しているが、投与に際しては、次の点に十分注意すること。
	報告企業の意見				今後の対応	
HAV 細胞馴化株間で液状加熱および加圧による不活化効果に差異があることを明らかにしたとの報告である。 本剤から HAV が伝播したとの報告はない。万一 HAV が混入したとしても、EMC 及び CPV をモデルウイルスとしたウイルスバリデーション試験成績から、製造工程において十分に不活化・除去されると考えている。				モデルウイルスを用いたウイルスバリデーション試験に加えて、必要に応じて実ウイルスを用いた工程評価を実施する。		



品名: 苹果汁
规格: 1.5L
产地: 中国

生产日期: 2023-10-01
保质期: 12个月

2P212

Axonal degeneration as a self-destructive defense mechanism against neurotropic virus infection

角田郁生¹⁾
ユタ大学 医学部 神経内科

✉ itsunoda@icmail.com

【Introduction】

Until recently, it was believed that, following axonal injury, the disconnected axon degenerates as a consequence of a lack of trophic support from the cell body. The findings in C57BL/Wld^s (Wld^s, Wallerian degeneration slow mutant) mice, suggest that axonal degeneration is an active program of self-destruction in many physiological and pathological settings. Wld^s mice are protected from axonal (Wallerian) degeneration by overexpression of a fusion protein (Wld^s). Although preservation of axons is beneficial in most cases, delay of axonal degeneration can be detrimental in infection with viruses that use axonal flow for their spread in the central nervous system (CNS).

【Materials and Methods】

We infected Wld^s mice and their parent strain C57BL/6 (B6) mice with Theiler's murine encephalomyelitis virus (TMEV), a virus that can be transported by axonal flow. Virus persistence and neuropathology were examined 1, 2, 3, 5 weeks and 3 and 6 months after infection.

【Results】

B6 mice are known to be relatively resistant to TMEV infection, and a small percentage of mice developed paralysis. In contrast, 30 % and 50 % of Wld^s mice showed limb paralysis during the acute and chronic stages of infection, respectively. Wld^s mice had prolonged inflammation and larger numbers of viral antigen containing cells in the CNS, compared with B6 mice. Despite the protection from axonal degeneration, Wld^s mice had neuronal death (apoptosis) and marked loss of MAP-2 immunoreactivity, suggesting that apoptosis and dendritic pathology cannot be prevented by the Wld^s gene.

【Discussion】

Prolonged survival of axons in Wld^s mice could favor virus spread in the CNS, while axonal degeneration in B6 mice might be a beneficial self-destructive mechanism that limits the spread of virus in the CNS. Thus, neurons seem to have two self-destruction programs: apoptosis and axonal degeneration, both of which can limit neurotropic virus propagation in the nervous system.

2P213

加熱および加圧によるA型肝炎ウイルスの不活化—材料間の差異の検討—

嶋崎典子¹⁾、清原知子²⁾、戸塚敦子²⁾、梅森清子³⁾、岡田義昭³⁾、米山徹夫²⁾財団法人北里環境科学センター ウイルス部¹⁾、
国立感染症研究所 ウイルス第二部²⁾、
国立感染症研究所 血液・安全性研究部³⁾

✉ shimasaki@kitasato-e.or.jp

【目的と意義】

A型肝炎ウイルス(HAV)はエンベロープがなく、血液製剤の不活化処理で不活化されにくい。外国では血液製剤を介してHAVに感染した事例があり、製造工程における安全対策上重要なウイルスである。一般に血液製剤のValidation試験ではHAV細胞馴化株が使用されるが、馴化株には多くの遺伝子変異が見られることから、株間で不活化処理に対する感受性の異なる可能性がある。既に我々は、熱抵抗性に変化の生じることを報告した(戸塚敦子等、第45回ウイルス学会)。今回、Validation試験に適切な株を選別することを目的として、血液製剤の製造工程でよく使われている加熱処理と、広範囲の病原体不活化が期待される新規不活化法である加圧処理とを試み、遺伝子型の違う複数のHAV細胞馴化株間で不活化効果に差異があるか検討した。

【材料と方法】

HAV細胞馴化株は、KRM238、KRM003(遺伝子型IIIB)、KRM031(IA型)、TKM005(IB型)を使用した。ウイルス感染価は、HAVに感染したGL37細胞を免疫染色法にて測定した。加熱処理は、25%アルブミンにHAVを添加し60℃で1~10時間加熱した。加圧処理は、室温下で300~420MPaの1分間加圧の後減圧するサイクルを3回繰り返した。

【結果】

60℃10時間加熱処理において、KRM003とKRM031は約5log₁₀の感染価低下が認められたのに対し、他の2株は約3log₁₀の低下であった。また420MPa加圧処理において、KRM031は約5log₁₀の低下が認められたのに対し、他の3株は約3log₁₀の低下であった。加熱処理と加圧処理の其々に不活化され易い株とされにくい株があり、両者で約2log₁₀の差異があった。

【考察】

HAV細胞馴化株間で不活化効果に差異があることを明らかにした。TKM005は他株より細胞で増えにくいことを考慮すると、Validation試験に使用する株として、加熱や加圧で不活化されにくく細胞で良く増殖するKRM238が適切であると考えられた。また、血液製剤の製造工程に新規不活化法を導入する場合には、従来法で不活化されにくい株が、新規不活化法にも抵抗性であるとは限らないため、Validation試験に使用する株を適切に選定して不活化評価を慎重に行う必要がある。

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	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	http://cvi.asm.org/cgi/reprint/CVI.00128-07v1	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)	-			米国	
研究報告の概要 19	<p>抗 HCV 抗体陽性の慢性肝炎患者では GOR 自己抗原決定基に対する抗体反応がしばしば検出される。本研究は、潜在性 HCV 感染患者の血清中に抗 GOR 抗体が検出されるかどうかを調査し、潜在性 HCV 感染における抗 GOR 抗体アッセイの診断的意義を評価することを目的とした。</p> <p>肝組織における HCV RNA の検出によって HCV 感染があると診断され、血清中の抗 HCV 抗体は陰性である潜在性 HCV 感染患者 110 例から得られた血清を対象に、抗 GOR 抗体の反応性を検討した。抗 GOR 抗体は 110 例中 22 例 (20%) で検出され、その頻度と力価は慢性 C 型肝炎患者 (70/110, 63.6%) と比較して有意に低かった (P<0.001)。HCV とは無関係の肝疾患患者 120 例ではいずれも抗 GOR 抗体は検出されなかった。</p> <p>潜在性 HCV 感染患者の臨床、検査および組織学的特徴は、HCV RNA 陽性肝細胞の割合が抗 GOR 抗体陽性の潜在性 HCV 感染患者で有意に高かった (P=0.042)。このことを除き、いずれも抗 GOR 抗体の状態による差は認められなかった。</p> <p>結論として、市販の検査では抗 HCV 抗体が検出されなくとも、潜在性 HCV 感染患者には抗 GOR 抗体が存在する。血清に HCV RNA が検出されない患者において抗 GOR 抗体の検査を行うことは、肝生検を実施することなく、少なくとも一部の潜在性 HCV 感染を検出する上において有用と思われるが、正確に診断するためには大多数の患者では肝生検が必要になると思われる。</p>				
	報告企業の意見	今後の対応			
血清中から抗 HCV 抗体は検出されず、肝生検により HCV RNA の検出される潜在性 HCV 感染の一部 (20%) を抗 GOR 抗体検査の実施により検出することができるとの報告であるが、現時点で本検査法に対する正確性、有用性の評価はできない。	今後とも HCV に関する情報に留意していく。				
弊社の血漿分画製剤の製造工程には二つ以上のウイルス除去・不活化工程が組み込まれており、最終製品において核酸増幅検査により HCV RNA が陰性であることを確認している。					

2

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24

**Serum IgG Antibodies to the GOR Autoepitope are Present in Occult Hepatitis C
Virus (HCV) Infection Despite Lack of HCV-specific Antibodies**

Juan A. Quiroga, Inmaculada Castillo, Javier Bartolomé and Vicente Carreño*

Fundación para el Estudio de las Hepatitis Virales. Madrid, Spain.

Running title: IgG anti-GOR testing in occult HCV infection

Key words: hepatitis C virus (HCV); seronegative occult HCV infection; serological
diagnosis; IgG anti-GOR testing

word count for the abstract: 217

word count for the text: 2825

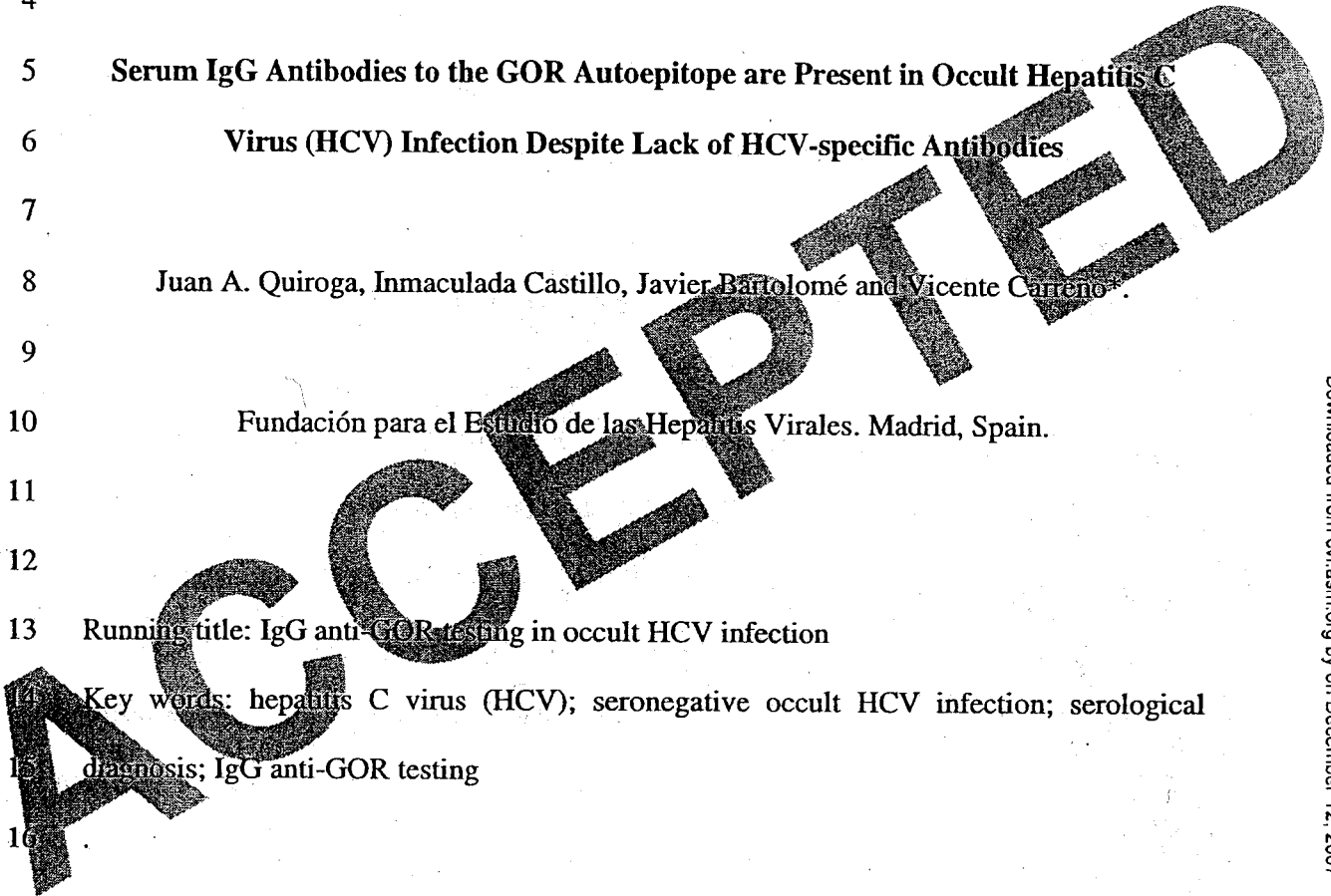
Number of Tables: 1

Number of Figures: 3

*Corresponding author: Vicente Carreño, MD

Fundación para el Estudio de las Hepatitis Virales. Guzmán el Bueno, 72. 28015 Madrid,

Spain. Tel:+34-91.544.6013; Fax; +34-91.544.9228; e-mail: fehvhpa@fehvh.org



Downloaded from cvi.asm.org by on December 12, 2007

1 **ABSTRACT**

2

3 Antibody responses to the GOR autoepitope are frequently detected among anti-hepatitis C
4 virus (anti-HCV)-positive patients with chronic hepatitis. GOR antibody reactivity has
5 been investigated in sera from 110 anti-HCV-negative patients with occult HCV infection
6 as diagnosed by detection of HCV RNA in hepatic tissue. A positive test to IgG anti-GOR
7 was found in 22 (20%) of them. The frequency and titres of IgG anti-GOR were
8 significantly lower compared with chronic hepatitis C patients (70/110, 63.6%, $P < 0.001$).
9 IgG anti-GOR was not detected in any of the 120 patients with HCV-unrelated liver
10 disease. The IgG anti-GOR assay showed values of specificity and sensitivity of 100% and
11 20%, respectively, among occult HCV-infected patient sera; the predictive values
12 (positive, PPV; negative, NPV) were 100% and 44.3%. None of the clinical, laboratory and
13 histological characteristics of the patients with occult HCV infection were different
14 according to GOR antibody status except that the percentage of HCV RNA-positive
15 hepatocytes resulted significantly greater ($P = 0.042$) in patients with occult HCV infection
16 who tested positive to IgG anti-GOR. In conclusion, serum IgG anti-GOR is present in
17 patients with occult HCV infection despite lack of detectable HCV-specific antibodies
18 using commercial tests. Testing for IgG anti-GOR in patients without HCV RNA detected
19 in serum may help in identifying a subset of occult HCV infection without performing a
20 liver biopsy.

21

22 **Key words:** GOR antibody reactivity; anti-HCV-negative occult HCV infection; chronic
23 hepatitis C; host-derived antigen GOR; cross-reactivity.

1 INTRODUCTION

2

3 Occult hepatitis C virus (HCV) infection has been described recently in patients
4 with persistently abnormal liver function tests of unknown etiology (2). Occult HCV
5 infection has been noted by other authors as well (4,27). Because such patients are
6 repeatedly negative by current assays for antibodies to HCV and HCV RNA in serum,
7 occult HCV infection is identified by detection of HCV RNA in hepatic tissue. Except for
8 the serological profile, occult HCV infection show characteristics similar to those observed
9 in patients with chronic hepatitis C. Thus, HCV RNA has been detected in peripheral blood
10 mononuclear cells of a high percentage of patients (2). Also, HCV replication has been
11 demonstrated in peripheral blood mononuclear cells from occult HCV-infected patients
12 (3), in a similar way to patients with chronic hepatitis C. In addition, ultracentrifugation
13 studies have revealed that the buoyant densities of HCV RNA from occult HCV-infected
14 patients are comparable to those of particles found in the serum of patients with chronic
15 hepatitis C (unpublished results). Furthermore, patients with occult HCV infection may
16 potentially benefit from interferon-based therapies as reported recently (18).

17 The GOR (GOR47-1) gene product is a host-derived antigen isolated from a cDNA
18 library of host animals (16) which cross-reacts on immunoassays with sera of hepatitis C
19 virus-positive patients. The human counterpart of the GOR gene product has been isolated
20 recently (8); its sequence was highly conserved compared with that of the chimpanzee.
21 Antibodies against another GOR epitope (termed GOR1-125), which is translated in
22 humans, have been detected in some individuals without association with HCV infection
23 (8). The detection of antibodies to the GOR47-1 autoepitope (anti-GOR) was first
24 described in sera from non-A, non-B hepatitis cases (16). Since then, several studies have

1 shown that the presence of anti-GOR is almost restricted to anti-HCV-positive individuals
2 (14,15). The sequence of the GOR (GOR47-1) epitope has a partial homology with the
3 HCV-encoded core protein sequence (17); both sequences show a high conservation of
4 residues essential for antibody binding (34). Antibodies against GOR are frequently
5 detected among patients with overt HCV infection (6,16,21,31). Thus, anti-GOR appears to
6 be an antibody specifically related to HCV infection (15,16).

7 On the other hand, there is little evidence of a relationship between autoimmunity
8 and GOR in human beings (13). However, because HCV infection may be associated with
9 extrahepatic autoimmune disorders (20) such as cryoglobulinemia (5) and autoimmune
10 hepatitis (15) the presence of serum factors associated with inflammatory conditions that
11 could interfere with GOR-antibody detection needs to be ruled-out. Prior studies have
12 found anti-GOR responses in a small percentage of individuals with chronic liver disease
13 but without HCV RNA (28-33) but none of these have previously investigated the presence
14 of occult HCV. Up to date there are no data reporting on the detection of anti-GOR in
15 patients with occult HCV infection.

16 The aims of this work have been to investigate whether anti-GOR can be detected
17 in the sera of occult HCV-infected patients and to assess the diagnostic significance of
18 GOR-antibody assay in occult HCV infection.

1 MATERIALS AND METHODS

2

3 **Study subjects.** One hundred ten patients with a diagnosis of occult HCV infection
4 were enrolled in this study. They were serum anti-HCV-negative (Innotest-HCV Ab IV
5 Innogenetics, Gent, Belgium) and serum HCV RNA-negative (Amplicor HCV version 2.0;
6 Roche Diagnostics, Branchburg, NJ; sensitivity of 50 IU/mL), and presented sustained
7 abnormal liver function tests of unknown etiology for a minimum time of 12 months
8 (tested every 3 months) prior to undergoing a liver biopsy for histological diagnosis (26)
9 which demonstrated the presence of hepatic HCV RNA assayed by both PCR (110/110,
10 100%) and in situ hybridization (108/108 tested, 100%) as reported elsewhere (2). HCV
11 RNA amplified from liver biopsies was genotyped by a standard method (Inno-LIPA HCV
12 II, Innogenetics); all patients with occult HCV infection showed HCV1b (2). Other known
13 causes of liver disease were excluded based on clinical, epidemiological and laboratory
14 data: infection by HBV (hepatitis B surface antigen and serum HBV DNA negative),
15 autoimmunity (negative for anti-nuclear and anti-mitochondrial antibodies, etc.), metabolic
16 and genetic disorders, alcohol intake, drug toxicity, etc.; all subjects were negative for anti-
17 HIV antibodies. There were no known risk factors for HCV infection; none of the patients
18 referred clinical or biochemical history of acute hepatitis.

19 Control groups included: 110 patients with chronic hepatitis C (serum anti-HCV
20 and HCV RNA-positive and abnormal transaminase values; all with HCV genotype 1); 35
21 patients with cryptogenic liver disease (serum anti-HCV and HCV RNA-negative and liver
22 HCV RNA-negative but abnormal transaminase values); 35 patients with non-viral liver
23 disease: 10 with autoimmune hepatitis, 10 with primary biliary cirrhosis, 5 with alcoholic
24 hepatitis and 10 with steatosis or steatohepatitis (all were liver HCV RNA-negative); and

1 50 patients with chronic hepatitis B (all serum HBV DNA-positive: 15 hepatitis B e
2 antigen-positive and 35 anti-HBe-positive). The study was approved by the ethics
3 committee of the institution and was conducted according to the Declaration of Helsinki on
4 human experimentation. Informed consent was obtained from the patients.

5 **Enzyme immunoassay to detect IgG anti-GOR.** A pentadecapeptide with the
6 sequence GRRGQKAKSNPNRPL corresponding to the GOR (GOR47-61) epitope (16) was
7 purchased from RayBiotech Inc. (Norcross, GA); the lyophilized peptide had a purity >
8 80% as determined by high-performance liquid chromatography. The peptide was
9 dissolved and diluted to a concentration of 1 mg/ml in deionized ultrapure sterile water.

10 Detection of IgG antibody to GOR was done by enzyme immunoassay. In brief, wells
11 of a 96-well microtitre BIA plate (Costar, Cambridge, MA) were coated with 10 µg/ml
12 GOR peptide in 0.1 M sodium carbonate buffer pH 9.6 for 18 h at 4 °C. Wells were washed
13 with PBS pH 7.4 containing 0.05% Tween 20 (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) and
14 non-specific sites blocked by incubating for 1 h at 37 °C with PBS containing 0.05%
15 Tween 20 plus 10% heat-inactivated fetal bovine serum (Sera Laboratories International
16 Ltd., West Sussex, UK). Serum samples were diluted 1:10 in blocking buffer and pre-
17 incubated for 1 h at 37 °C with shaking; then, samples were allowed to react in duplicate
18 with GOR-coated wells for 1h at 37 °C (100 µl/well) . Wells were washed five times as
19 above and incubated (1 h at 37 °C) with horseradish peroxidase-conjugated rabbit
20 polyclonal anti-human IgG (DakoCytomation A/S, Glostrup, Denmark) diluted 1:1000 in
21 blocking buffer. After washing as above wells were reacted for 30 min at room
22 temperature in the dark with 2,2'-azinobis-[3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid]-
23 diammonium salt (ABTS; Pierce, Rockford, IL) and the absorbance value measured at 405
24 nm with a reference at 620 nm. A sample was considered reactive to IgG anti-GOR if the

1 absorbance value exceeded the mean absorbance values of 20 non-exposed, HCV-negative
2 healthy volunteers plus five times the standard deviation. Typical cut-off values were
3 below 0.11 absorbance units at 405/620 nm.

4 The specificity of the IgG anti-GOR antibody detection was assured by peptide
5 inhibition assay as reported previously (21), in which serum samples were pre-incubated
6 without or with the GOR peptide (10, 100 and 1000 µg/ml) in blocking buffer and then
7 reacted in duplicate in the EIA as described above. A decrease of more than 50% in the
8 absorbance values denoted inhibition of IgG anti-GOR detection. The reproducibility of
9 the IgG anti-GOR assay was assessed in three separate runs, with the same samples from
10 GOR IgG antibody-negative and positive samples. The intra- and inter-assay coefficients
11 of variation were 8.8% and 9.9%, respectively. Titration of IgG anti-GOR was done as
12 described above in GOR IgG antibody-positive samples by serial two-fold serum dilutions
13 (starting from 1:20) in blocking buffer and then reacted in duplicate in the EIA.

14 Determinations of rheumatoid factor and C-reactive protein were assayed in serum
15 samples using latex agglutination tests (Biokit S.A., Barcelona, Spain). Presence of
16 cryoglobulins was visually assessed by the appearance of a cryoprecipitate by blood
17 coagulation at 37°C, centrifugation and incubation of serum at 4°C for 24 to 72 hours.

18 **Statistical analysis.** Results were analyzed by non-parametric tests using the SPSS
19 program (version 9.0; SPSS Inc., Chicago, IL). The chi-square test (or Fischer's exact test
20 when applicable) was used to compare frequencies. Correlations were done using the
21 Spearman's rank correlation coefficient. All P values reported are two-tailed.

1 RESULTS

2 Twenty-two of the 110 (20%) patients with occult HCV infection had IgG anti-GOR
3 detectable in their serum. The specificity of the IgG anti-GOR antibody detection was
4 demonstrated by peptide inhibition assay as shown in figure 1. Thus, pre-incubation of
5 serum samples with the GOR peptide resulted in a decrease of more than 50% in the
6 absorbance values of IgG anti-GOR detection, whereas less than 5% blocking was noted
7 following pre-incubation with an irrelevant peptide.

8 In patients with chronic hepatitis C, 70/110 (63.6%) had serum IgG anti-GOR. Thus,
9 the frequency of GOR antibody detection was significantly higher in patients with chronic
10 hepatitis C compared with individuals with occult HCV infection ($P < 0.001$). IgG anti-
11 GOR was neither detected in 35 patients with cryptogenic liver disease nor in 35 others
12 suffering from non-viral liver diseases, irrespective of the etiology of the disease; similarly,
13 IgG anti-GOR was undetectable in fifty chronic hepatitis B patients.

14 To assess the analytical performance of the IgG anti-GOR assay the sensitivity and
15 specificity parameters were calculated with a threshold of detection set at 0.11 absorbance
16 units as described in Materials and Methods. The "gold standard" to evaluate the accuracy
17 of the IgG anti-GOR test was the presence of hepatic HCV RNA that had allowed
18 identifying occult HCV infection. Thus, the IgG anti-GOR assay showed values of
19 specificity and sensitivity of 100% and 20%, respectively, among occult HCV-infected
20 patient sera. Similarly, the predictive values (positive, PPV; negative, NPV) were 100%
21 and 44.3%, respectively, considering 70 HCV RNA-negative patients with HCV-unrelated
22 non-viral liver disease.

1 Titration of IgG anti-GOR showed a median value of 1:20 in patients with occult
2 HCV infection with serum GOR antibody titres ranging from 1:10 to 1:80 (figure 2). In
3 patients with chronic hepatitis C the median IgG anti-GOR titre was 1:80 and titres ranged
4 from 1:40 to 1:320. Thus, GOR IgG antibody levels were significantly lower among
5 individuals with occult HCV infection compared with chronic hepatitis C patients ($P <$
6 0.001 ; figure 2). On the other hand, the analysis of IgG anti-GOR titres in sequential serum
7 samples demonstrated minor changes in IgG anti-GOR levels among GOR antibody-
8 positive patients with occult HCV infection. Similarly, there were no changes in IgG anti-
9 GOR titres among GOR antibody-positive untreated chronic hepatitis C patients within a
10 one-year period of survey (data not shown).

11 As regards the clinical, laboratory and histological characteristics, patients with
12 occult HCV infection who tested positive to IgG anti-GOR did not differ from those who
13 were GOR antibody-negative (table 1); the histological activity (average scores of necro-
14 inflammation and fibrosis) tended to be greater, although not significantly, among IgG
15 anti-GOR-positive patients with occult HCV infection (data not shown). On the other hand,
16 the percentage of infected hepatocytes (that is, cells positive to genomic HCV RNA by in
17 situ hybridization) resulted significantly greater ($P = 0.042$) in patients with occult HCV
18 infection who tested positive to IgG anti-GOR (figure 3). However, the percentage of
19 HCV-infected hepatocytes did not correlate significantly with IgG anti-GOR titres among
20 the twenty-two GOR antibody-positive patients ($r_s = 0.311$, $P = 0.19$). In patients with
21 overt chronic HCV infection the median percentage of infected hepatocytes observed by in
22 situ hybridization was 8.0 (range 2.5 – 38.6), which resulted significantly higher ($P < 0.001$)
23 compared with occult HCV infection (median of 4.0, range 0.1 – 18.0), in agreement with
24 a previous report (19).

1 With respect to rheumatoid factor, it was detected in the serum from 12 of the 110
2 (10.9%) patients with occult HCV infection, including one (4.5%) of the 22 GOR
3 antibody-positive individuals. Similarly, C-reactive protein was detectable in 15/110
4 (13.6%) patients with occult HCV infection, including 1/22 (4.5%) IgG anti-GOR-positive
5 individuals. Finally, cryoglobulins were found in 14/110 (12.7%) patients with occult HCV
6 infection; only one of them (4.5%) had IgG anti-GOR detectable.

ACCEPTED

1 DISCUSSION

2 In this study, we have observed a 20% frequency of IgG antibody reactivity to the
3 GOR autoepitope in the serum of anti-HCV-negative patients with occult HCV infection.
4 Low IgG anti-GOR titres were found in most GOR antibody-positive individuals.
5 Importantly, IgG anti-GOR was not detected in any of the patients without HCV
6 irrespective of the etiology of the liver disease. Thus, despite repeated absence of serum
7 anti-HCV antibodies by commercial immunoassays IgG anti-GOR can be found in patients
8 with occult HCV infection. Most studies had only detected anti-GOR reactivity in HCV
9 seropositive patients (6,9,14,15,21,31). However, a few reports identified anti-HCV-
10 negative individuals who tested positive to anti-GOR (9,14) including blood donors (7,32);
11 although, these studies did not exclude the presence of occult HCV infection. In addition, it
12 has been reported that detection of anti-GOR without anti-HCV is not associated with
13 hepatitis C viremia (1). In this way, among occult HCV-infected patients HCV RNA is
14 persistently negative in serum (2).

15 The frequency of IgG anti-GOR in occult HCV infection was significantly lower
16 compared with a 63.6% GOR IgG-antibody reactivity found in patients with chronic
17 hepatitis C, which is similar to the frequency reported by several authors in patients with
18 overt HCV infection (10,12,14,16,21). Also, anti-GOR levels were greater in chronic
19 hepatitis C compared with occult HCV infection. We have reported recently that sera from
20 some patients with occult HCV infection may demonstrate a positive reaction against HCV
21 non-structural proteins on immunoblot assays suggesting a very low level of specific
22 antibody production (23). In chronic hepatitis C, the presence of antibodies reactive to the
23 host-derived antigen GOR is not merely due to sequence homology but to cross-reactivity

1 at the molecular level because of conservation of residues essential for antibody binding
2 (34). Thus, de novo infection with HCV after liver transplantation produces an increase in
3 IgG anti-GOR likely due to increased viral load and replication under immunosuppression
4 indicating that the immune response to GOR autoantibody is triggered by HCV (24).

5 The low level of IgG anti-GOR antibodies detected in occult HCV infection may
6 reflect not only exposure to HCV (22), but also an ongoing productive HCV infection
7 within the liver (2). Indeed, HCV replication has been demonstrated in peripheral blood
8 mononuclear cells from occult HCV-infected patients as well (3). This may result in
9 discrete amounts of antigen production and then presentation to antibody-producing cells.
10 Interestingly, the percentage of infected hepatocytes resulted significantly greater in
11 patients with occult HCV infection who tested positive to IgG anti-GOR. The
12 mechanism(s) that regulate humoral immune responses during occult HCV infection are
13 not well known. In humans the GOR (GOR47-1) gene product cannot be translated into a
14 protein (8) and so antibody responses to GOR and HCV may be independently regulated as
15 suggested in chronic hepatitis C (11). In patients with chronic hepatitis C anti-HCV
16 antibodies usually persist for decades; although, these may eventually disappear after
17 recovery from HCV infection (29,30).

18 Among individuals with occult HCV infection, the subset of GOR IgG antibody-
19 positive patients did not show a different clinical background compared with their IgG
20 anti-GOR-negative counterparts (9). However, a greater number of IgG anti-GOR-positive
21 patients had signs of necro-inflammation, which is similar to patients with chronic hepatitis
22 C, in whom reactivity to GOR had been correlated with liver disease activity (21).
23 Nevertheless, compared with chronic hepatitis C occult HCV infection seems to be a less

1 aggressive form of the disease caused by the hepatitis C virus (19); although, liver cirrhosis
2 is present in around 4% of these patients.

3 Finally, rheumatoid factor, C-reactive protein and/or cryoglobulins were detected in
4 the serum of 10-14% of occult HCV-infected patients. Frequencies of such factors were
5 lower than those commonly found in chronic hepatitis (25), suggesting that this may reflect
6 differences in the host response to HCV between occult HCV and chronic hepatitis C
7 patients. In addition, the presence of these factors was not associated with the GOR-IgG
8 antibody status. These data are in line with the notion that the significance of GOR is little
9 during triggering of autoimmune phenomena by HCV and thus GOR is unlikely a marker
10 of induced autoimmunity as already reported in chronic HCV infection (13). Indeed,
11 histological features of autoimmune disease were absent in all patients.

12 In conclusion, we have found that sera from 20% of the patients with occult HCV
13 react with the GOR autoepitope on enzyme immunoassays; although, this frequency is
14 lower compared to GOR reactivity in patients with chronic hepatitis C. Because IgG anti-
15 GOR is not detected in patients with HCV-unrelated liver disease detection of IgG
16 antibodies to the GOR seems to reflect cross-recognition with viral sequences during
17 occult HCV infection, even in the absence of detectable HCV-specific antibodies using
18 commercial tests. Testing for IgG anti-GOR might be used to screen HCV RNA-negative
19 patients and thus help in identifying at least a subset of occult HCV infection without
20 performing a liver biopsy. Nevertheless, even after implementation of IgG anti-GOR
21 testing the majority of patients would still need a liver biopsy for accurate diagnosis of
22 occult HCV infection.

1 **ACKNOWLEDGMENTS**

2

3 The authors have no conflicting financial interests. This work has been supported in part
4 by a grant from "Fundación de Investigaciones Biomédicas", Madrid (Spain).

5

ACCEPTED

1 REFERENCES

2

3 1. Baath, L., and A. Widell. 1994. Anti-GOR without anti-HCV core is not
4 associated with hepatitis C viremia. *Vox Sang.* 66:151.

5 2. Castillo, I., M. Pardo, J. Bartolomé, N. Ortiz-Movilla, E. Rodríguez-Iñigo, S. de
6 Lucas, C. Salas, J.A. Jiménez-Hefferman, A. Pérez-Mota, J. Graus, J.M. López-
7 Alcorocho, and V. Carreño. 2004. Occult hepatitis C virus infection in patients in
8 whom the etiology of persistently abnormal results of liver-function tests is unknown.
9 *J. Infect. Dis.* 189:7-14.

10 3. Castillo, I., E. Rodríguez-Iñigo, J. Bartolomé, S. de Lucas, N. Ortiz-Movilla,
11 J.M. López-Alcorocho, M. Pardo, and V. Carreño. 2005. Hepatitis C virus
12 replicates in peripheral blood mononuclear cells of patients with occult hepatitis C
13 virus infection. *Gut* 54:682-685.

14 4. Dries, V., J. von Both, M. Muller, G. Gerken, P. Schirmacher, M. Odenthal, R.
15 Bartenschlager, U. Drebbler, K.H. Meyer zum Buschenfeld, and H.P. Dienes.
16 1999. Detection of hepatitis C virus in paraffin-embedded liver biopsies of patients
17 negative for viral RNA in serum. *Hepatology* 29:223-229.

18 5. Ferri, C., A.L. Zignego, and S.A. Pileri. 2002. Cryoglobulins. *J. Clin. Pathol.*
19 55:4-13.

20 6. Hayashi, J., K. Nakashima, Y. Kishihara, M. Ohmiya, E. Yoshimura, M.
21 Hirata, and S. Kashiwagi. 1993 Improved detection of antibodies to hepatitis C
22 virus by the second-generation assay in patients with chronic non-A, non-B liver
23 disease. *J. Infect.* 26:287-294.

- 1 7. Irving, W.L., S. Day, D. Bennett, R.P. Eglin, P. Flanagan, P. Nuttall, and V.
2 James. 1993. Use of anti-GOR testing in the screening of blood donors for
3 hepatitis C virus infection. *Vox Sang.* 65:38-41.
- 4 8. Koike, R., T. Iizuka, T. Watanabe, and N. Miyasaka. 2001. The GOR gene
5 product cannot cross-react with hepatitis C virus in humans. *Clin. Exp. Immunol.*
6 124:429-434.
- 7 9. Kurosaki, M., N. Enomoto, C. Sato, N. Sakamoto, Y. Hoshino, H. Haritani,
8 and F. Marumo. 1993. Correlation of plasma hepatitis C virus RNA levels with
9 serum alanine aminotransferase in non-A, non-B chronic liver disease. *J. Med.*
10 *Virol.* 39:246-250.
- 11 10. Lau, J.Y., G.L. Davis, E. Goto, K.P. Qian, M. Mizokami. 1993. Significance of
12 antibody to the host cellular gene derived epitope GOR in chronic hepatitis C virus
13 infection. *J. Hepatol.* 17:253-257.
- 14 11. Lohr, H.B., G. Gerken, G. Michel, H.B. Braun, and K.H. Meyer zum
15 Buschenfelde. 1994. In vitro secretion of anti-GOR protein and anti-hepatitis C
16 virus antibodies in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 107:1443-
17 1448.
- 18 12. Maggi, F., M.L. Vatteroni, M. Pistello, C.M. Avio, N. Cecconi, F. Panicucci,
19 and M. Bendinelli. 1995. Serological reactivity and viral genotypes in hepatitis C
20 virus infection. *J. Clin. Microbiol.* 33:209-211.
- 21 13. McFarlane, B.M., C. Bridger, C.J. Tibbs, M.G. Saleh, A. Fuzio, G. Verucchi,
22 L. Attard, A. Boschi, F. Chiodo, I.G. McFarlane, and R. Williams. 1994. Virus-
23 induced autoimmunity in hepatitis C virus infections: a rare event. *J. Med. Virol.*
24 42:66-72.

- 1 14. Mehta, S.U., S. Mishiro, K. Sekiguchi, T. Leung, G.J. Dawson, L.M. Pendy,
2 D.A. Peterson, and S.G. Devare. 1992. Immune response to GOR, a marker for
3 non-A, non-B hepatitis and its correlation with hepatitis C virus infection. *J. Clin.*
4 *Immunol.* 12:178-184.
- 5 15. Michel, G., A. Ritter, G. Gerken, K.H. Meyer zum Büschenfelde, R. Decker,
6 and M. P. Manns. 1992. Anti-GOR and hepatitis C virus in autoimmune liver
7 diseases. *Lancet* 339:267-269.
- 8 16. Mishiro, S., Y. Hoshi, K. Takeda, A. Yoshikawa, T. Gotanda, K. Takahashi, Y.
9 Akahane, H. Yoshizawa, H. Okamoto, F. Tsuda, D.A. Peterson, and E.
10 Muchmore. 1990. Non-A, non-B hepatitis specific antibodies directed at host-
11 derived epitope: implication for an autoimmune process. *Lancet* 336:1400-1403.
- 12 17. Mishiro, S., K. Takeda, Y. Hoshi, A. Yoshikawa, T. Gotanda, and Y. Itoh.
13 1991. An autoantibody cross-reactive to hepatitis C virus core and a host nuclear
14 antigen. *Autoimmunity* 10:269-273.
- 15 18. Pardo, M., J.M. López-Alcorocho, I. Castillo, E. Rodríguez-Iñigo, A. Perez-
16 Mota, and V. Carreño. 2006. Effect of antiviral therapy for occult HCV infection.
17 *Aliment. Pharmacol. Ther.* 23:1153-1159.
- 18 19. Pardo, M., J.M. López-Alcorocho, E. Rodríguez-Iñigo, I. Castillo, and V.
19 Carreño. 2007. Comparative study between occult hepatitis C virus infection and
20 chronic hepatitis C. *J. Viral. Hepat.* 14:36-40.
- 21 20. Peakman, M., and D. Vergani. 1997. Basic and clinical immunology. New York:
22 Churchill Livingstone:1-338.
- 23 21. Quiroga, J.A., M. Pardo, S. Navas, J. Martín, and V. Carreño. 1996. Patterns of
24 immune responses to the host-encoded GOR and hepatitis C virus core-derived

- 1 epitopes with relation to hepatitis C viremia, genotypes, and liver disease severity.
2 J. Infect. Dis. 173:300-305.
- 3 22. Quiroga JA, S. Llorente, I. Castillo, E. Rodríguez-Iñigo, M. Pardo, and V.
4 Carreño. 2006. Cellular immune responses associated with occult hepatitis C virus
5 infection of the liver. J. Virol. 80:10972-10979.
- 6 23. Quiroga, J.A., I. Castillo, M. Pardo, E. Rodríguez-Iñigo, and V. Carreño. 2006.
7 Combined hepatitis C virus (HCV) antigen-antibody detection assay does not
8 improve diagnosis for seronegative individuals with occult HCV infection. J. Clin.
9 Microbiol. 44:4559-4560.
- 10 24. Rehermann, B., U. Seifert, H.L. Tillmann, G. Michel, K.H. Boker, R.
11 Pichlmayr, and M.R. Manns. 1996. Serological pattern of hepatitis C virus
12 recurrence after liver transplantation. J. Hepatol. 24:15-20.
- 13 25. Sansonno, D., and F. Dammacco. 2005. Hepatitis C virus, cryoglobulinaemia, and
14 vasculitis: immune complex relations. Lancet Infect. Dis. 5:227-236.
- 15 26. Scheuer, P.J. 1991. Classification of chronic viral hepatitis: a need for
16 reassessment. J. Hepatol. 13:372-374.
- 17 27. Schmidt, W.N., P. Wu, J. Cederna, F.A. Mitros, D.R. LaBrecque, and J.T.
18 Stapleton. 1997. Surreptitious hepatitis C virus (HCV) infection detected in the
19 majority of patients with cryptogenic chronic hepatitis and negative HCV antibody
20 tests. J. Infect. Dis. 176:27-33.
- 21 28. Taliani, G., R. Lecce, M.C. Badolato, A. Bozza, G. Poliandri, C. Furlan, R.
22 Bruni, C. Clementi, and C. De Bac. 1994. Anti-GOR antibodies in anti-hepatitis C
23 virus positive subjects with and without virus replication and liver disease. J.
24 Hepatol. 20:845.

- 1 29. Toyoda, H., T. Kumada, S. Kiriya, Y. Sone, M. Tanikawa, Y. Hisanaga, T.
2 Kuzuya, T. Honda, K. Hayashi, I. Nakano, Y. Katano, and H. Goto. 2005.
3 Changes in hepatitis C virus (HCV) antibody status in patients with chronic
4 hepatitis C after eradication of HCV infection by interferon therapy. *Clin. Infect.*
5 *Dis.* 15:49-54.
- 6 30. Umemura, T., R.Y. Wang, C. Schechterly, J.W. Shih, K. Kiyosawa, and H.J.
7 Alter. 2006. Quantitative analysis of anti-hepatitis C virus antibody-secreting B
8 cells in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 43:91-99.
- 9 31. Wang, Y.F., B. Brotman, L. Andrus, and A.M. Prince. 1996. Immune response
10 to epitopes of hepatitis C virus (HCV) structural proteins in HCV-infected humans
11 and chimpanzees. *J. Infect. Dis.* 173:808-821.
- 12 32. Yoshizawa, H., N. Nojiri, and K. Takahashi. 1991. Measurement of anti-GOR
13 antibodies in prevention of post-transfusion non-A, non-B hepatitis. *Lancet* 337:47-
14 48.
- 15 33. Yoshimura, E., J. Hayashi, Y. Tani, M. Ohmiya, K. Nakashima, H. Ikematsu,
16 N. Kinikawa, Y. Maeda, and S. Kashiwagi. 1994. Inverse correlation between
17 the titre of antibody to hepatitis C virus and the degree of hepatitis C viraemia. *J.*
18 *Infect.* 29:147-155.
- 19 34. Zhang, Z.X., M. Chen, K. Wallhagen, J. Trojnar, L.O. Magnius, B. Wahren,
20 and M. Sallberg. 1994. Molecular basis for antibody cross-reactivity between the
21 hepatitis C virus core protein and the host-derived GOR protein. *Clin. Exp.*
22 *Immunol.* 96:403-409.

1 FIGURE LEGENDS

2

3 **Fig. 1.** Specificity of serum anti-GOR detection assay in occult HCV infection. GOR
4 antibody detection was blocked by pre-incubation with GOR peptide but not by an irrelevant
5 peptide. The results shown are mean percentages of anti-GOR blocking at each peptide
6 concentration plus the standard error of the mean from five GOR antibody-positive
7 individuals with occult HCV infection.

8

9 **Fig. 2.** Comparison of GOR antibody titres between occult HCV infection and chronic
10 hepatitis C. Box-plot representation of anti-GOR titres (expressed as end-point serum dilution)
11 measured in GOR antibody-positive patients with occult HCV infection ($n = 22$) and chronic
12 hepatitis C ($n = 70$).

13

14 **Fig. 3.** Relationship between hepatic HCV infection and GOR antibody responses in
15 occult HCV infection. Box-plot representation of the percentages of HCV-infected
16 hepatocytes in occult HCV-infected patients with negative ($n = 87$) and positive ($n = 21$) anti-
17 GOR detection tests in serum. Outliers are represented by single circles.

TABLE 1. Characteristics of the patients with occult HCV infection according to GOR antibody status.

	Anti-GOR positive (n=22)	Anti-GOR negative (n=88)	P value
Age (yr.) *	45.5 (39.9-51.1)	45.1 (42.7-47.5)	0.86
Gender (M/F)	19/3	64/24	0.18
Duration of disease (yr.) * [§]	6.2 (3.4-9.0)	6.4 (3.6-9.2)	0.56
ALT (IU/l) *	67 (51-84)	68 (59-79)	0.67
AST (IU/l) *	38 (29-47)	41 (35-46)	0.86
GGTP (IU/l) *	111 (73-148)	94 (76-112)	0.32
Necroinflammation**	19 (50)	31 (35)	0.20
Fibrosis **	5 (23)	17 (19)	0.72
Cirrhosis	1 (4)	2 (2)	0.88
Steatosis **	4 (18)	14 (16)	0.79

* expressed as the mean (95% CI of the mean).

** expressed as the number of cases (%).

[§] refers to the estimated duration of abnormal liver function tests since first alteration was detected.

Figure 1

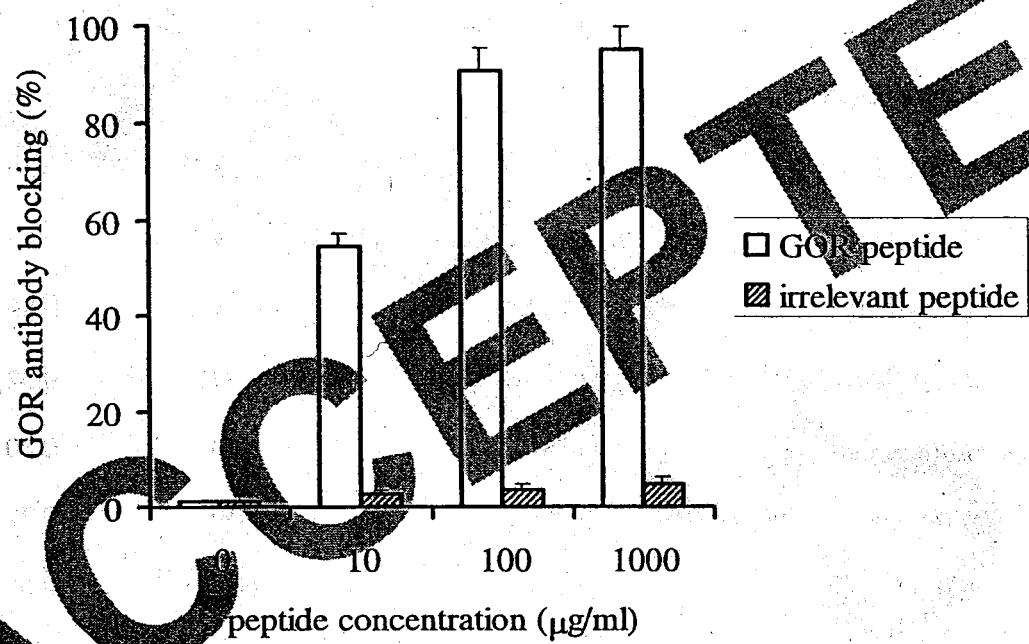


Figure 2

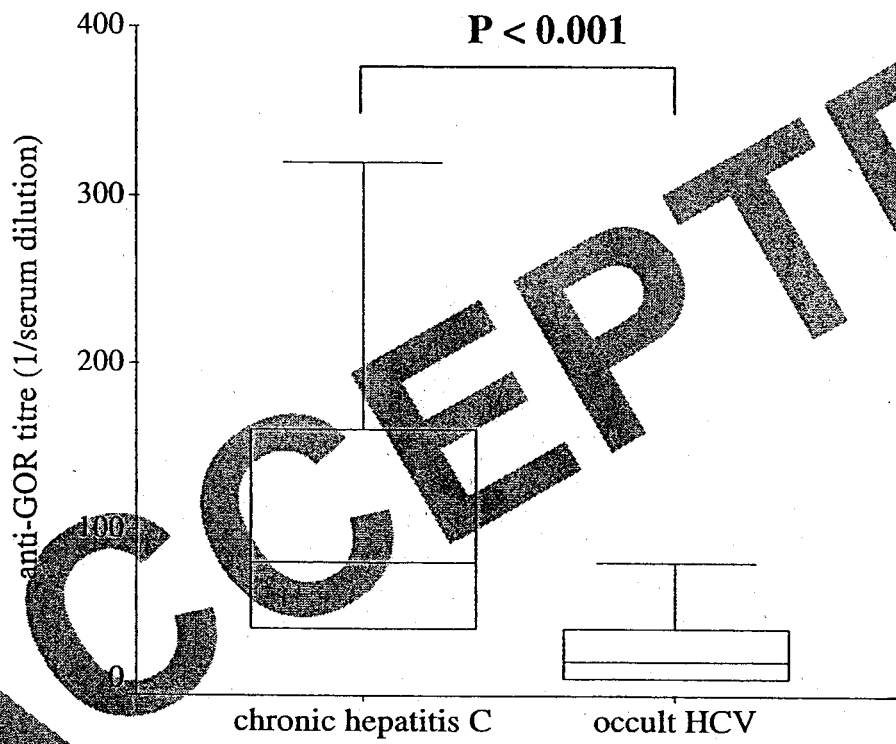
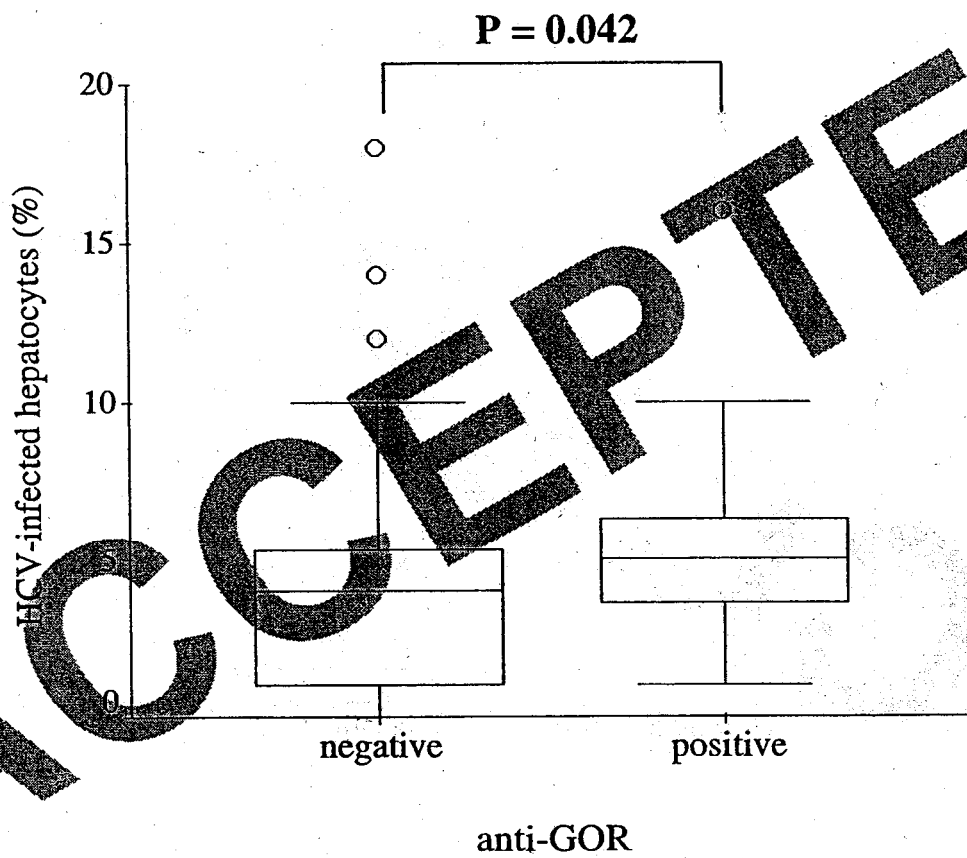


Figure 3



医薬品 研究報告 調査報告書

<p>識別番号・報告回数</p>			<p>報告日</p>	<p>第一報入手日 2007. 10. 4</p>	<p>新医薬品等の区分 該当なし</p>	<p>機構処理欄</p>
<p>一般的名称</p>	<p>人赤血球濃厚液</p>		<p>研究報告の公表状況</p>	<p>Fukuda S, Ishikawa M, Ochiai N, Suzuki Y, Sunaga J, Shinohara N, Nozawa K, Tsuda F, Takahashi M, Okamoto H. Arch Virol. 2007 Sep;152(9):1623-35. Epub 2007 May 29.</p>	<p>公表国 日本</p>	
<p>販売名(企業名)</p>	<p>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)</p>					
<p>研究報告の概要</p>	<p>○ALT上昇を伴う日本の献血者ではE型肝炎ウイルス抗体およびHEV RNAの高陽性率は1991年～2006年において変化していない E型肝炎は本邦では稀であるが、今まで考えられていた以上に発生している。本邦において、E型肝炎ウイルス(HEV)の新たな不顕性感染症が近年増加しているかどうかを検討するため、1991年～2006年の期間に、ALT高値(≥61 IU/L)が認められ、現在HEVに感染している可能性の高い献血者4,019名から得た血清検体中のHEV RNAを調べた。2004年～2006年の献血者3,185名のanti-HEV IgG、anti-HEV IgM/IgA、HEV RNAの全体的な陽性率は、1998年の献血者594名と同等であった(5.3 vs. 5.2%、0.2 vs. 0.5%、0.2 vs. 0.3%)。献血年別に3群(1991年～1995年[n=156]、1996年～1999年[n=116]、2004年～2006年[n=61])に分けたALT ≥ 201 IU/Lの献血者間において、anti-HEV IgG (5.8、4.3、6.6%)、anti-HEV IgM/IgA (1.9、3.4、3.3%)、HEV RNA (1.3、3.4、3.3%)の陽性率に検出可能な差はなかった。本試験で得られた11のHEV分離ウイルスは、ORF2配列にそれぞれ1.7～22.8%の相違があり、遺伝子型3または4に分類された。1991年～2006年の期間に、本邦における多様なHEV株によるHEV不顕性感染の発現率は本質的に変化していない。</p>					<p>使用上の注意記載状況・ その他参考事項等</p>
<p>報告企業の意見</p>			<p>今後の対応</p>			
<p>日本において、1991年～2006年の期間にALT高値(≥61 IU/L)が認められ、現在HEVに感染している可能性が高い献血者の血清中のHEV RNAを調べたところ、この期間のHEV不顕性感染の発現率は本質的に変化していなか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。北海道における輸血HEV感染報告を受け、試験的に北海道では研究的NATを行うなど安全対策を実施している。また、輸血による肝炎ウイルス感染防止のため、血液中のALT値61IU/L以上の血液を輸血用から排除している。今後もHEV感染の実態に関する情報の収集及び安全対策に努める。</p>			

3

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 2007. 10. 4	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	Fukuda S, Ishikawa M, Ochiai N, Suzuki Y, Sunaga J, Shinohara N, Nozawa K, Tsuda F, Takahashi M, Okamoto H. Arch Virol. 2007 Sep;152(9):1623-35. Epub 2007 May 29.	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>○ALT上昇を伴う日本の献血者ではE型肝炎ウイルス抗体およびHEV RNAの高陽性率は1991年～2006年において変化していない</p> <p>E型肝炎は本邦では稀であるが、今まで考えられていた以上に発生している。本邦において、E型肝炎ウイルス(HEV)の新たな不顕性感染症が近年増加しているかどうかを検討するため、1991年～2006年の期間に、ALT高値(≥61 IU/L)が認められ、現在HEVに感染している可能性の高い献血者4,019名から得た血清検体中のHEV RNAを調べた。2004年～2006年の献血者3,185名のanti-HEV IgG、anti-HEV IgM/IgA、HEV RNAの全体的な陽性率は、1998年の献血者594名と同等であった(5.3 vs. 5.2%、0.2 vs. 0.5%、0.2 vs. 0.3%)。献血年別に3群(1991年～1995年[n=156]、1996年～1999年[n=116]、2004年～2006年[n=61])に分けたALT ≥ 201 IU/Lの献血者間において、anti-HEV IgG(5.8、4.3、6.6%)、anti-HEV IgM/IgA(1.9、3.4、3.3%)、HEV RNA(1.3、3.4、3.3%)の陽性率に検出可能な差はなかった。本試験で得られた11のHEV分離ウイルスは、ORF2配列にそれぞれ1.7～22.8%の相違があり、遺伝子型3または4に分類された。1991年～2006年の期間に、本邦における多様なHEV株によるHEV不顕性感染の発現率は本質的に変化していない。</p>				使用上の注意記載状況・ その他参考事項等
	<p>報告企業の意見</p> <p>日本において、1991年～2006年の期間にALT高値(≥61 IU/L)が認められ、現在HEVに感染している可能性が高い献血者の血清中のHEV RNAを調べたところ、この期間のHEV不顕性感染の発現率は本質的に変化していなかったとの報告である。</p>				
<p>報告企業の意見</p> <p>日本において、1991年～2006年の期間にALT高値(≥61 IU/L)が認められ、現在HEVに感染している可能性が高い献血者の血清中のHEV RNAを調べたところ、この期間のHEV不顕性感染の発現率は本質的に変化していなかったとの報告である。</p>			<p>今後の対応</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。北海道における輸血HEV感染報告を受け、試験的に北海道では研究的NATを行うなど安全対策を実施している。また、輸血による肝炎ウイルス感染防止のため、血液中のALT値61IU/L以上の血液を輸血用から排除している。今後もHEV感染の実態に関する情報の収集及び安全対策に努める。</p>		

3

Unchanged high prevalence of antibodies to hepatitis E virus (HEV) and HEV RNA among blood donors with an elevated alanine aminotransferase level in Japan during 1991–2006*

S. Fukuda¹, M. Ishikawa¹, N. Ochiai¹, Y. Suzuki¹, J. Sunaga¹, N. Shinohara¹, K. Nozawa¹, F. Tsuda², M. Takahashi³, H. Okamoto³

¹ Japanese Red Cross Tochigi Blood Center, Tochigi, Japan

² Department of Medical Sciences, Toshiba General Hospital, Tokyo, Japan

³ Division of Virology, Department of Infection and Immunity, Jichi Medical University School of Medicine, Tochigi, Japan

Received 5 March 2007; Accepted 2 May 2007; Published online 29 May 2007

© Springer-Verlag 2007

Summary

Hepatitis E is rare in Japan but is occurring more frequently than previously thought. To investigate whether de novo subclinical infection of hepatitis E virus (HEV) has recently increased in Japan, HEV RNA was assayed in serum samples obtained from 4019 Japanese voluntary blood donors with alanine aminotransferase (ALT) of ≥ 61 IU/l, who are likely to have ongoing HEV infection, during 1991–2006. The overall rates of IgG-class antibody to HEV (anti-HEV IgG), anti-HEV IgM/IgA and HEV RNA among 3185 donors in 2004–2006 were comparable with those among 594 donors in 1998 (5.3 vs. 5.2%, 0.2 vs. 0.5%, and 0.2 vs. 0.3%, respectively). Among blood donors with ALT ≥ 201 IU/l in three

groups according to the year of blood collection (1991–1995 [$n = 156$], 1996–1999 [$n = 116$] and 2004–2006 [$n = 61$]), there were no appreciable differences in the prevalence of anti-HEV IgG (5.8, 4.3, and 6.6%, respectively), anti-HEV IgM/IgA (1.9, 3.4, and 3.3%, respectively) and HEV RNA (1.3, 3.4, and 3.3%, respectively). The eleven HEV isolates obtained in the present study differed from each other by 1.7–22.8% in the ORF2 sequence and segregated into genotype 3 or 4. The occurrence rate of subclinical infection with divergent HEV strains has essentially remained unchanged during 1991–2006 in Japan.

Introduction

Hepatitis E, which is caused by hepatitis E virus (HEV), is found in many parts of the world. The disease is transmitted via the fecal-oral route through virus-contaminated water or food in developing countries where sanitation is suboptimal [36]. HEV infection is also endemic in industrialized countries, and IgG-class antibodies against HEV (anti-HEV IgG), most likely due to past subclinical HEV

* The nucleotide sequence data reported in this study have been assigned DDBJ/EMBL/GenBank accession numbers AB292649–AB292659.

Correspondence: Hiroaki Okamoto, Division of Virology, Department of Infection and Immunity, Jichi Medical University School of Medicine, 3311-1 Yakushiji, Shimotsuke-Shi, Tochigi-Ken 329-0498, Japan
e-mail: hokamoto@jichi.ac.jp

infection, have been detected in a significant proportion of healthy individuals in the United States, European countries and Japan [8, 16, 33, 36, 40, 51]; however, only a limited number of sporadic cases of acute hepatitis E have been reported in industrialized countries. Increasing lines of evidence indicate that hepatitis E is a zoonosis and that there exist animal reservoirs of HEV [9, 24, 25, 31–33, 40, 48, 52, 57].

HEV is a single-stranded, positive-sense RNA virus without an envelope and is currently classified as the sole member of the genus *Hepivirus* in the family *Hepeviridae* [4]. Its genome is approximately 7.2 kilobases (kb) in length and contains three open reading frames (ORFs: ORF1, ORF2, and ORF3) flanked by short untranslated regions [49]. ORF1 encodes non-structural proteins that are involved in virus replication and viral protein processing. ORF2 encodes the capsid protein and ORF3 encodes a small phosphorylated protein [14, 58]. Due to the extensive genomic diversity noted among HEV isolates, HEV sequences have been classified into four genotypes (genotypes 1–4) [39, 56]. Genotype 1 HEV was responsible for a number of waterborne epidemics of hepatitis E in Asia and Africa. Although HEV of genotype 2 has been detected less frequently, it was responsible for outbreaks in Mexico in 1986–1987 [54] and has been implicated in sporadic infections in Africa [3, 20]. On the other hand, genotypes 3 and 4 HEV cause sporadic cases of acute hepatitis but have not been found to be responsible for epidemics in humans; these infections seem to be zoonotic and both genotypes have been detected in pigs (genotype 3 worldwide, and genotype 4 in East Asia), which may constitute the major reservoir of HEV genotypes 3 and 4 [8, 19, 24, 25].

In Japan, multiple HEV strains of genotypes 3 and 4 have been recovered from patients with domestically acquired hepatitis E [12, 30, 42–45], and HEV has been recognized as an important causative agent of sporadic acute hepatitis of non-A, non-B, non-C etiology [30, 33]. A high prevalence of anti-HEV IgG has been reported [16, 27, 28, 50, 51], and HEV-viremic subjects have been identified among symptom-free blood donors with an elevated alanine aminotransferase (ALT) level [7]. How-

ever, it remains unknown whether or not subclinical HEV infection is increasing recently in Japan. Therefore, in an attempt to investigate the changing prevalence of de novo subclinical HEV infection in Japan, HEV RNA was assayed in serum samples obtained from Japanese voluntary blood donors with an elevated ALT level of ≥ 61 IU/l, who are likely to have ongoing HEV infection, during 1991–2006.

Materials and methods

Serum samples

Serum samples were collected from a total of 3185 voluntary blood donors (age: 32.5 ± 10.9 [mean \pm standard deviation, SD] years; 2863 men and 322 women) with an elevated ALT level of 61–967 (range: 87.9 ± 41.8 , mean \pm SD) IU/l at the Japanese Red Cross Tochigi Blood Center, Japan, between April 2004 and December 2006. The Blood Center is located in Tochigi Prefecture, a prefecture in the northern part of mainland Honshu of Japan. Serum samples collected from 594 blood donors with an elevated ALT level of 61–2178 (100.4 ± 106.9) IU/l between February and November 1998 at the same blood center were also used in the present study. In addition, serum samples obtained from 240 blood donors with an elevated ALT level of ≥ 201 IU/l at the same blood center, from 1991–1997 and 1999, were used. Serum samples obtained from repeat donors during the study period were excluded; that is, each sample was obtained from a unique individual.

All 4019 serum samples were negative for hepatitis B surface antigen, and antibodies to hepatitis C virus (HCV) and human immunodeficiency virus (HIV) type 1. The 3198 samples obtained since 1999 were additionally negative for hepatitis B virus DNA, HCV RNA and HIV type 1 RNA by the nucleic acid amplification test using Roche's Multiplex reagent [26].

Detection of antibodies to HEV

To detect anti-HEV IgG, anti-HEV IgM and anti-HEV IgA, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was performed using purified recombinant ORF2 protein of HEV genotype 4 that had been expressed in the pupae of silkworm [30], as described previously [47]. In the ELISA assays for anti-HEV IgG, anti-HEV IgM and anti-HEV IgA, peroxidase-conjugated mouse monoclonal anti-human IgG antibody, peroxidase-conjugated mouse monoclonal anti-human IgM, or peroxidase-labeled mouse monoclonal anti-human IgA, respectively, was used. The optical density (OD) of each sample was read at 450 nm. The cut-off value used for the anti-HEV IgG, anti-HEV IgM, and anti-HEV IgA assays was 0.175, 0.440, and 0.642, respectively [47]. Samples with OD values for anti-HEV IgG, IgM, or IgA equal to or greater

than the respective cut-off value were considered to be positive for anti-HEV IgG, IgM, or IgA, respectively. The specificity of the anti-HEV assays was verified by absorption with the same recombinant ORF2 protein that was used as the antigen probe. Briefly, when the OD value of the tested sample was less than 30% (anti-HEV IgG/IgA) or 50% (anti-HEV IgM) of the original value after absorption with the recombinant ORF2 protein, the sample was considered to be positive for anti-HEV.

Detection of HEV RNA

Reverse transcription (RT)-polymerase chain reaction (PCR) was performed for detection of HEV RNA in serum samples with anti-HEV IgM and/or anti-HEV IgA, using nested primers targeting the ORF2 region, as described previously [30]. The size of the amplification product of the first-round PCR was 506 base pairs (bp), and that of the second-round PCR was 457 bp. The nested RT-PCR assay that we used has the capability of amplifying all four known genotypes of HEV strains reported thus far [30, 46, 57]. The specificity of the RT-PCR assay was verified by sequence analysis as described below. The sensitivity of the RT-PCR assay was assessed as described previously [30]. For serum samples that were negative for HEV RNA when 100 µl of serum sample was used, total RNA was extracted from 500 µl of serum, reverse transcribed, and then subjected to nested PCR as described above. To extract RNA from 500 µl of serum, test serum diluted 2-fold in saline was centrifuged at $287,582 \times g$ at 4 °C for 2 h in a TLA-100.2 rotor (Beckman Coulter K. K., Tokyo, Japan), and the resulting pellet was suspended in 100 µl of saline and subjected to the RT-PCR assay. To confirm the reproducibility, this assay was performed in duplicate.

For serum samples without anti-HEV IgM and anti-HEV IgA, 10 µl each from 50 serum samples were pooled, and each pool was tested for HEV RNA by the above-mentioned RT-PCR. If a pool was positive for HEV RNA, the 50 serum samples of that pool were individually tested for the presence of HEV RNA.

Sequence analysis of PCR products

The amplification products were sequenced directly on both strands using the BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit on an ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA). Sequence analysis was performed using Genetyx-Mac version 12.2.7 (Genetyx Corp., Tokyo, Japan) and ODEN version 1.1.1 from the DNA Data Bank of Japan (DDBJ: National Institute of Genetics, Mishima, Japan) [11]. Sequence alignments were generated by CLUSTAL W (version 1.8) [53]. Phylogenetic trees were constructed by the neighbor-joining method [38] based on the partial nucleotide sequence of the ORF2 region (412 nucleotides [nt]). Bootstrap values were determined on 1000 resamplings of the data sets [6].

Statistical analysis

Statistical analyses were performed using the Chi-Square-test for comparison of proportions between two groups. Differences were considered to be statistically significant at $P < 0.05$.

Results

Age- and sex-specific prevalence of anti-HEV antibodies and HEV RNA during 2004–2006

A total of 3185 serum samples obtained from apparently healthy blood donors with an elevated ALT level between April 2004 and December 2006 were tested for the presence of anti-HEV IgG. Anti-HEV IgG was detected in 5.3% (168/3185) of the tested population including 5.1% of the 2863 male donors and 6.5% of the 322 female donors, the difference not being significant (Table 1). The prevalence of anti-HEV IgG increased with age among both the male and female donors, and was significantly higher among donors aged ≥ 40 years than among those aged < 40 years in total (10.9 vs. 3.4%, $P < 0.0001$) and in the males (11.0 vs. 3.2%, $P < 0.0001$). All 168 serum samples with anti-HEV IgG were tested for anti-HEV IgM and anti-HEV IgA. Among them, anti-HEV IgM and anti-HEV IgA were simultaneously detected in six samples (3.6%), of which four samples tested positive for HEV RNA in a sample volume of both 10 and 100 µl, and one sample in 500 µl. As for the 3179 serum samples without anti-HEV IgM and anti-HEV IgA, although sixty-three 50-sample pools and one 29-sample pool were tested for the presence of HEV RNA, none of them had detectable HEV RNA. Consequently, 5 (0.2%) of the 3185 samples were found to be viremic for HEV. As for the prevalence of HEV viremia, there were no appreciable differences between males and females (0.1 vs. 0.3%, $P = 0.4628$), and between donors aged ≥ 40 years and those aged < 40 years (0.4 vs. 0.1%, $P = 0.0700$).

Prevalence of anti-HEV antibodies and HEV RNA during 2004–2006, stratified by ALT level

In the present study, 168 donors with anti-HEV IgG were found during 2004–2006, including 143 (5.6%) with an ALT level of 61–100 IU/l, 21 (3.6%)

Table 1. Age- and sex-dependent prevalence of anti-HEV antibodies and HEV RNA among voluntary blood donors with an elevated ALT level between April 2004 and December 2006

Age (years)	No. of total donors (%) with			No. of male donors (%) with			No. of female donors (%) with		
	Anti-HEV		HEV RNA	Anti-HEV		HEV RNA	Anti-HEV		HEV RNA
	No. of donors	IgG-class	IgM- and/or IgA-class	No. of donors	IgG-class	IgM- and/or IgA-class	No. of donors	IgG-class	IgM- and/or IgA-class
16-19	538	9 (1.7)	1 (0.2)	462	7 (1.5)	1 (0.2)	76	2 (2.6)	0
20-29	702	19 (2.7)	1 (0.1)	640	14 (2.2)	1 (0.2)	62	5 (8.1)	0
30-39	1150	53 (4.6)	0	1054	48 (4.6)	0	96	5 (5.2)	0
40-49	561	55 (9.8)	2 (0.4)	518	54 (10.4)	2 (0.4)	43	1 (2.3)	0
50-59	200	24 (12.0)	0	169	19 (11.2)	0	31	5 (16.1)	0
60-68	34	8 (23.5)	2 (5.9)	20	5 (25.0)	1 (5.0)	14	3 (21.4)	1 (7.1)
Total	3185	168 (5.3)	6 (0.2)	2863	147 (5.1)	5 (0.2)	322	21 (6.5)	1 (0.3)

with an ALT level of 101-200 IU/l, and 4 (6.6%) with an ALT level of ≥ 201 IU/l (Table 2). The prevalence of anti-HEV IgG was comparable between donors with an ALT level of ≥ 201 IU/l and those with an ALT level of 61-200 IU/l (6.6 vs. 5.2%). As for the prevalence of HEV RNA, however, there was a significant difference between donors with an ALT level of ≥ 201 IU/l and those with an ALT level of 61-200 IU/l in total (3.3 vs. 0.1%, $P < 0.0001$), in males (3.7 vs. 0.1%, $P < 0.0001$), but not in females, probably due to the small number of female donors tested (0 vs. 0.3%, $P = 0.8813$).

Comparison of the prevalence of anti-HEV antibodies and HEV RNA between donors with an elevated ALT level in 1998 and those in 2004-2006

The overall rates of anti-HEV IgG, anti-HEV IgM/IgA and HEV RNA among donors in 1998 were comparable with those among donors in 2004-2006 (5.2 vs. 5.3%, 0.5 vs. 0.2%, and 0.3 vs. 0.2%, respectively) (Table 3). The prevalence of anti-HEV IgG increased with age in the two year groups, although none of the two donors in the age group of 60-68 years in 1998 had anti-HEV IgG. As in the year group of 2004-2006, the prevalence of HEV RNA was significantly higher among donors with an ALT level of ≥ 201 IU/l than among those with an ALT level of 61-200 IU/l in 1998 (6.3 vs. 0%, $P < 0.0001$).

Prevalence of anti-HEV antibodies and HEV RNA among donors with an elevated ALT level of ≥ 201 IU/l, stratified by the year group of blood collection

Table 4 compares various features of the blood donors with an elevated ALT level of ≥ 201 IU/l, who are likely to have ongoing HEV infection, in the three year groups (1991-1995, 1996-1999 and 2004-2006) according to the year of blood collection. There were no appreciable differences in the age distribution, gender ratio, ALT level and prevalence of anti-HEV IgG among the three year groups of 1991-1995, 1996-1999 and 2004-2006. The prevalence of anti-HEV IgM/IgA and HEV RNA, indicative of present HEV infection, was low at 1.9

Table 2. Prevalence of anti-HEV IgG and HEV RNA among voluntary blood donors with an elevated ALT level during 2004–2006, stratified by ALT level

ALT (IU/l)	Total			Male			Female		
	N	Anti-HEV IgG	HEV RNA	N	Anti-HEV IgG	HEV RNA	N	Anti-HEV IgG	HEV RNA
61–100	2546	143 (5.6%)	2 (0.1%)	2296	128 (5.6%)	1 (0.04%)	250	15 (6.0%)	1 (0.4%)
101–200	578	21 (3.6%)	1 (0.2%)	513	15 (2.9%)	1 (0.2%)	65	6 (9.2%)	0
201–967	61	4 (6.6%)	2 (3.3%)	54	4 (7.4%)	2 (3.7%)	7	0	0
Total	3185	168 (5.3%)	5 (0.2%)	2863	147 (5.1%)	4 (0.1%)	322	21 (6.5%)	1 (0.3%)

Table 3. Comparison of the prevalence of anti-HEV antibodies and HEV RNA among blood donors with an elevated ALT level between 1998 and 2004–2006

Feature	1998			2004–2006				
	N	Anti-HEV-positive (%)		HEV RNA-positive (%)	N	Anti-HEV-positive (%)		HEV RNA-positive (%)
		IgG-class	IgM- and/or IgA-class			IgG-class	IgM- and/or IgA-class	
Age (years)								
16–19	43	0	0	0	538	9 (1.7)	1 (0.2)	1 (0.2)
20–29	216	6 (2.8)	1 (0.5)	1 (0.5)	702	19 (2.7)	1 (0.1)	1 (0.1)
30–39	200	11 (5.5)	0	0	1150	53 (4.6)	0	0
40–49	108	10 (9.3)	1 (0.9)	0	561	55 (9.8)	2 (0.4)	1 (0.2)
50–59	25	4 (16.0)	1 (4.0)	1 (4.0)	200	24 (12.0)	0	0
60–68	2	0	0	0	34	8 (23.5)	2 (5.9)	2 (5.9)
ALT (IU/l)								
61–100	454	23 (5.1)	1 (0.2)	0	2546	143 (5.6)	3 (0.1)	2 (0.1)
101–200	108	7 (6.5)	0	0	578	21 (3.6)	1 (0.2)	1 (0.2)
201–2178	32	1 (3.1)	2 (6.3)	2 (6.3)	61	4 (6.6)	2 (3.3)	2 (3.3)
Total	594	31 (5.2)	3 (0.5)	2 (0.3)	3185	168 (5.3)	6 (0.2)	5 (0.2)

Table 4. Prevalence of anti-HEV antibodies and HEV RNA among blood donors with an elevated ALT level of ≥ 201 IU/l, stratified by the year group of blood collection

Feature	Year of blood collection		
	1991–1995 (n = 156)	1996–1999 (n = 116)	2004–2006 (n = 61)
Age (mean \pm SD, years)	26.0 \pm 9.9	26.4 \pm 9.9	27.6 \pm 12.5
Male	145 (92.9%)	105 (90.5%)	54 (88.5%)
ALT (mean \pm SD, IU/l)	294.6 \pm 216.4	299.8 \pm 211.6	289.4 \pm 135.8
Anti-HEV IgG	9 (5.8%)	5 (4.3%)	4 (6.6%)
Anti-HEV IgM/IgA	3 (1.9%)	4 (3.4%)	2 (3.3%)
HEV RNA	2 (1.3%) ^{a,b}	4 (3.4%) ^{a,c}	2 (3.3%) ^{b,c}
HEV genotype			
Genotype 3	1 (50.0%)	2 (50.0%)	2 (100%)
Genotype 4	1 (50.0%)	2 (50.0%)	0

^a $P = 0.2290$.^b $P = 0.3256$.^c $P = 0.9528$.

and 1.3%, respectively, in the year group of 1991–1995, but the difference among the three year groups was not statistically significant.

Genetic analysis of HEV isolates recovered from 11 viremic donors

The 11 HEV isolates recovered from the transiently viremic donors were named with the prefix of HE-JTB followed by the year of isolation and the sequential number of the viremic samples obtained that year (Table 5). The 412-nt sequence of ORF2 of these HEV isolates was determined and compared with each other and with that of known HEV isolates of genotypes 1–4. These 11 HEV isolates were markedly variable, sharing nucleotide identities ranging from 77.2 to 98.3%, and were classifiable into two groups differing by 18.9–22.8%. Eight

HEV isolates (HE-JTB95-1, HE-JTB96-1, HE-JTB96-2, HE-JTB05-1, HE-JTB05-2, HE-JTB06-1, HE-JTB06-2, and HE-JTB06-3) comprised one group and were close to the prototype Japanese isolate of genotype 3 (JRA1 [accession no. AP003430]) with nucleotide identities of 85.9–93.0%, and were only 77.9–80.3, 74.8–77.4, and 77.9–80.1% similar to the B1 isolate (M73218) of genotype 1, MEX-14 isolate (M74506) of genotype 2, and T1 isolate (AJ272108) of genotype 4, respectively. This finding suggests that these 8 HEV isolates are classifiable into genotype 3. The phylogenetic tree constructed based on the common 412-nt sequence within the ORF2 sequence confirmed that these 8 HEV isolates obtained in the present study belonged to genotype 3 and showed that they segregated into clusters consisting of Japanese HEV strains of the same genotype that had been recovered from hu-

Table 5. Characteristics of blood donors with an elevated ALT level who had detectable HEV RNA

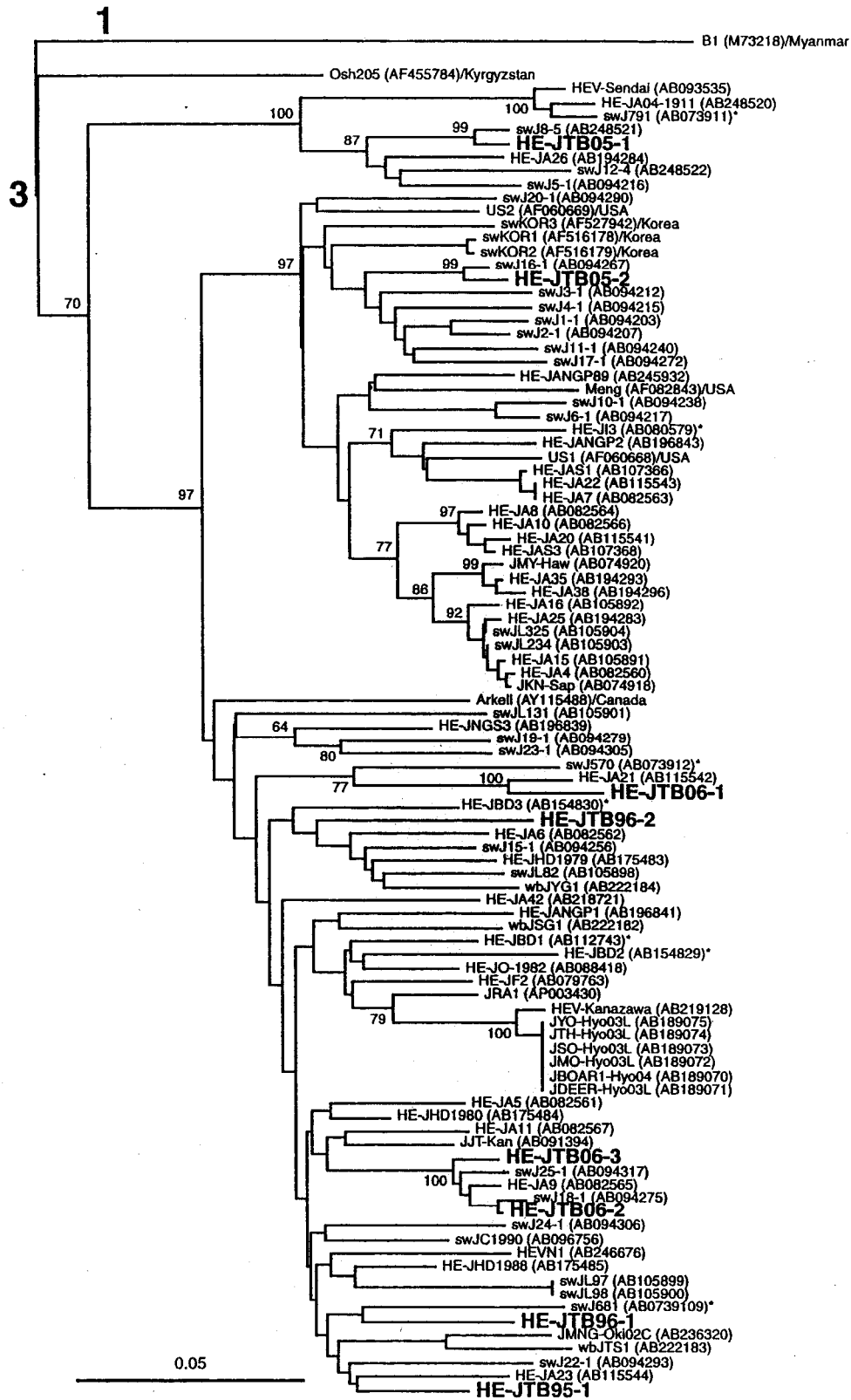
Year of isolation	Age (years)/sex	ALT (IU/l)	Anti-HEV (OD ₄₅₀ value)			HEV RNA (μl) ^a			HEV genotype	Isolate name
			IgG-class	IgM-class	IgA-class	10	100	500		
1994	44/M	457	>3.000 (+)	2.325 (+)	2.137 (+)	+ ^b	+	NT ^c	4	HE-JTB94-1
1995	58/M	2598	0.415 (+)	0.611 (+)	1.171 (+)	+	+	NT	3	HE-JTB95-1
1996	47/F	215	1.629 (+)	1.900 (+)	>3.000 (+)	+	+	NT	3	HE-JTB96-1
1996	49/M	262	1.624 (+)	0.981 (+)	1.983 (+)	+	+	NT	3	HE-JTB96-2
1998	29/M	628	0.127 (–)	1.272 (+)	0.146 (–)	+	+	NT	4	HE-JTB98-1
1998	54/M	2178	0.439 (+)	1.030 (+)	1.265 (+)	+	+	NT	4	HE-JTB98-2
2005	61/M	967	1.762 (+)	1.967 (+)	2.825 (+)	+	+	NT	3	HE-JTB05-1
2005	25/M	85	>3.000 (+)	2.792 (+)	2.683 (+)	+	+	NT	3	HE-JTB05-2
2006	60/F	63	1.170 (+)	0.665 (+)	2.928 (+)	+	+	NT	3	HE-JTB06-1
2006	17/M	138	2.278 (+)	1.804 (+)	2.939 (+)	–	–	+	3	HE-JTB06-2
2006	49/M	758	2.866 (+)	>3.000 (+)	2.313 (+)	+	+	NT	3	HE-JTB06-3

^a HEV RNA was assayed using the indicated volume of serum samples.

^b +, positive for HEV RNA; –, negative for HEV RNA.

^c NT, not tested.

Fig. 1. Phylogenetic tree constructed by the neighbor-joining method based on the partial nucleotide sequence of the ORF2 region (412 nt) of 99 HEV isolates, using a genotype 1 HEV (M73218) as an outgroup. In addition to the HE-JTB95-1, HE-JTB96-1, HE-JTB96-2, HE-JTB05-1, HE-JTB05-2, HE-JTB06-1, HE-JTB06-2, and HE-JTB06-3 isolates found in the present study, which are indicated in bold type for visual clarity, 90 reported HEV isolates of genotype 3, whose common 412-nt sequence is known, are included for comparison. The reported isolates are indicated with the accession no. followed by the name of the country of isolation (non-Japanese origin only). An asterisk denotes human or swine HEV strains that were isolated in the same prefecture as those obtained in the present study. Bootstrap values are indicated for the major nodes as a percentage obtained from 1000 resamplings of the data



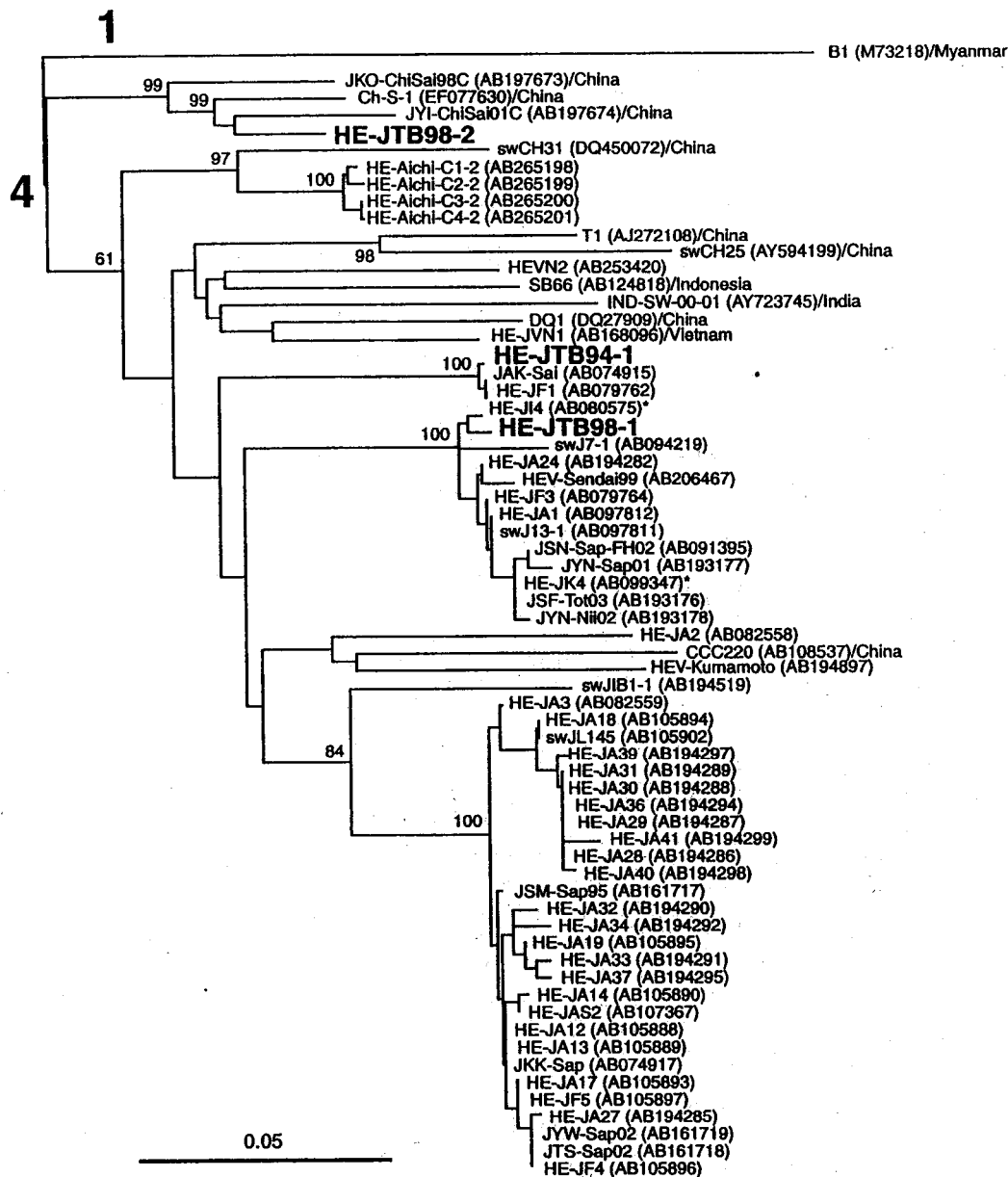


Fig. 2. Phylogenetic tree constructed by the neighbor-joining method based on the partial nucleotide sequence of the ORF2 region (412 nt) of 65 HEV isolates, using a genotype 1 HEV (M73218) as an outgroup. In addition to the HE-JTB94-1, HE-JTB98-1, and HE-JTB98-2 isolates found in the present study, which are indicated in bold type, 61 reported HEV isolates of genotype 4, whose common 412-nt sequence is known, are included for comparison. The reported isolates are indicated with the accession no. followed by the name of the country where it was isolated (non-Japanese origin only). An asterisk denotes human HEV strains that were isolated in the same prefecture as those obtained in the present study. Bootstrap values are indicated for the major nodes as a percentage obtained from 1000 resamplings of the data

mans, swine and wild boars, supporting the indigenous nature of these 8 blood donor isolates (Fig. 1). On the other hand, the remaining three

HEV isolates obtained in the present study (HE-JTB94-1, HE-JTB98-1 and HE-JTB98-2) were close to the prototype genotype 4 isolate (T1) with nu-

cleotide identities of 84.7–87.6%, and were only 79.9–81.8, 77.7–78.4, and 79.9–81.3% similar to the B1 isolate of genotype 1, MEX-14 isolate of genotype 2, and JRA1 isolate of genotype 3, respectively, suggesting that the HE-JTB94-1, HE-JTB98-1 and HE-JTB98-2 isolates belong to genotype 4. The phylogenetic tree constructed based on the common 412-nt ORF2 sequence confirmed that the 3 HEV isolates obtained in the present study segregated to genotype 4 (Fig. 2). Of note, the HE-JTB94-1 and HE-JTB98-1 isolates segregated into two distinct clusters consisting of Japanese HEV strains, each with a bootstrap value of 100%, but HE-JTB98-2 segregated into a cluster comprising the Chinese HEV strains that had been recovered from a Chinese patient with autochthonous hepatitis E (accession no. EF077630) and Japanese patients with hepatitis E who had traveled to China (AB197673–AB197674), suggesting that the HE-JTB98-2 isolate may be of China origin.

Discussion

This study examined the prevalence of ongoing subclinical HEV infection among 4019 apparently healthy blood donors with an elevated ALT level of ≥ 61 IU/l who donated blood during the last 16 years at a Japanese Red Cross Blood Center located in the northern part of mainland Honshu of Japan. As for the geographical distribution of hepatitis E in Japan, it was reported that there was wide variation, with a higher prevalence in the northern part of Japan (Hokkaido Island and the northern part of mainland Honshu) [1, 30], suggesting that the results obtained in the present study cannot simply be generalized for the whole country. However, our study corroborated the previous study by Tanaka et al. [51], who reported that, based on the age-specific distribution of anti-HEV IgG in 1974, 1984, and 1994, exposure to HEV remained constant between 1974 and 1994 in Metropolitan Tokyo, Japan. The prevalence of clinical HEV infection among patients with acute hepatitis remained unchanged during the period from 1989 to 2005 in a city hospital in Aichi Prefecture, which is located in the central part of Honshu Island of Japan [29]. Therefore, our present study may represent the recent trends of HEV infection, at least in the northern

and central parts of mainland Honshu of Japan, where hepatitis E is low-endemic [1].

The presence of anti-HEV IgG most likely reflects past subclinical HEV infection. The present study revealed that the prevalence of anti-HEV IgG among blood donors with ALT of ≥ 61 IU/l between 2004 and 2006 was similar to that in 1998 (5.3 vs. 5.2%), and that the prevalence of anti-HEV IgG among blood donors with ALT of ≥ 201 IU/l was comparable among the three year groups of 1991–1995, 1996–1999 and 2004–2006 (5.8, 4.3, and 6.6%, respectively) as well as that of 2002–2003 (4.1% or 23/560) [7]. Longitudinal seroepidemiological studies on transiently infected individuals suggested that anti-HEV IgG persisted much longer than expected, i.e., for more than 20 years [27, 28]. Even a low titer of anti-HEV IgG may reflect past subclinical HEV infection and has been detected in a significant proportion of healthy individuals not only in Japan but also in the United States and European countries [8, 16, 33, 36, 40, 51]. Therefore, in studies in which anti-HEV IgG is assayed at a single time point in each individual, it may be hard to specify when individuals with anti-HEV IgG contracted HEV infection and how prevalent *de novo* subclinical HEV infection was during a particular period.

In the present study, the genomic RNA of HEV was detected in a total of 11 donors with an ALT level of 63–2598 IU/l among the 4019 donors tested. When stratified by the year group of blood collection, the prevalence of HEV viremia among blood donors with ALT of ≥ 61 IU/l between 2004 and 2006 was comparable to that in 1998 (0.2 vs. 0.3%); and the prevalence of HEV viremia among blood donors with ALT of ≥ 201 IU/l was not statistically different among the three year groups of 1991–1995, 1996–1999, and 2004–2006 (1.3, 3.4, and 3.3%, respectively), or from that of 2002–2003 (4.4% or 1/23) [7], suggesting that *de novo* subclinical HEV infection occurred at an almost constant rate during the last 16 years in Tochigi Prefecture, Japan. In industrialized countries including Japan, maintenance of good hygiene of the water supply and sewage systems made the likelihood of waterborne infection of hepatitis A virus (HAV) extremely low [13]. However, our observations are consistent with the notion that transmission of HEV would not

be prevented by only improvement of sanitary conditions, despite the lower infectivity and transmissibility of HEV than HAV [36].

Domestically acquired hepatitis E has been reported in industrialized countries including the United States and European countries since 1997 [2, 5, 10, 15, 21, 34, 35, 37, 55]. However, only a limited number of sporadic cases of acute hepatitis E have been reported in the United States and European countries, and the changing profiles of clinical and subclinical HEV infection have not been studied in these countries. In Japan, clinical hepatitis E is rare compared with clinical hepatitis A but is occurring more frequently than previously thought [30, 33], where the first case of autochthonous hepatitis E was reported in 2001 [43], and presumably indigenous HEV strains have been recovered from individuals who contracted HEV infection in the 1970s [27, 28]. It remains unknown, however, why the prevalence of domestic HEV infection has remained stable during the last few decades in Japan. It has recently been suggested that zoonotic foodborne transmission of HEV from domestic pigs and wild boars to humans plays an important role in the occurrence of cryptic hepatitis E in Japan, where Japanese people have distinctive habits of eating raw fish (sushi or sashimi) and, less frequently, uncooked or undercooked meat (including the liver and colon/intestine of animals) [17, 23, 31, 41, 57]. Of note, we found a high prevalence of swine anti-HEV antibodies and a high HEV viremia rate among Japanese pigs [46, 48]. The majority of patients with sporadic acute hepatitis E in Hokkaido had a history of consuming grilled or undercooked pig liver and/or intestine approximately 2–8 weeks prior to the onset of hepatitis E [31]. Pig liver specimens from 7 (1.9%) of 363 packages sold in local grocery stores in Hokkaido had detectable HEV RNA [57]. These results strongly suggest that consumption of undercooked pig liver/intestine is a potential risk factor for HEV infection. Transfusion-associated hepatitis E has also been reported in Japan [22, 27]. Recently, of interest, it was reported that HEV RNA was detected in bivalves called Yamato-Shijimi (*Corbicula japonica*) obtained from Japanese rivers, indicating that HEV contaminates river water in Japan [18]. However,

the mode of HEV transmission in the 11 viremic donors in the present study was unclear. Further studies are needed to elucidate the mode(s) of clinical and subclinical HEV infection in the general population of Japan including Tochigi Prefecture.

As the 11 viremic donors identified in the present study had an elevated ALT level, the blood from the 11 donors was not used for transfusion, suggesting that ALT testing helps prevent transfusion-transmitted HEV infection. As one of the 11 infected donors had only a slightly elevated ALT level of 63 IU/l, it seems likely that even donors with a normal ALT level (≤ 60 IU/l) may have detectable HEV RNA. The prevalence of HEV RNA decreased with the ALT level and was significantly less frequent among the 3000 donors with ALT of 61–100 IU/l than among the 93 donors with ALT of ≥ 201 IU/l (0.067 vs. 4.3%, $P < 0.0001$) in 1998 and 2004–2006. Although the number of donors tested was limited, it is reasonable to speculate that the prevalence of ongoing HEV infection among donors with a normal ALT level may be less than 0.067% in Tochigi Prefecture. The proportion of such donors may be very small or negligible, particularly in the southern part of Japan, where only 1.7% (9/527) of blood donors with ALT of ≥ 61 IU/l had anti-HEV IgG [7].

Reflecting the polyphyletic nature of human and animal HEV isolates of Japanese origin [30, 33, 44], the HEV isolates recovered from the 11 viremic donors in the present study differed by 1.7–22.8% from each other and segregated into genotype 3 or 4. Ten human HEV strains of genotype 3 (HE-JI3 [AB080579], HE-JBD1 [AB112743], HE-JBD2 [AB154829], HE-JBD3 [AB154830], and 6 unpublished isolates) have been isolated in the same prefecture as that of the 11 viremic donors and shared identities ranging from 80.6 to 99.8% with the 8 genotype 3 HEV isolates obtained in the present study. As for human HEV strains of genotype 4, two strains (HE-JI4 [AB080575] and HE-JK4 [AB099347]) isolated in the same prefecture shared 87.9–99.3% identities with the 3 genotype 4 HEV isolates obtained in the present study. These results further support the marked heterogeneity of the HEV genome and its wide distribution in Japan, even within a certain prefecture in this country.

In conclusion, 11 blood donors with HEV viremia were identified among 4019 voluntary blood donors with an elevated ALT level at a blood center located in the northern part of mainland Honshu of Japan, where hepatitis E is low-endemic. In this study, 2.4% of individuals with ALT of ≥ 201 IU/l had ongoing subclinical infection of various HEV strains, and the prevalence of HEV viremia was distributed nearly evenly in the year groups of 1991–1995, 1996–1999, and 2004–2006, suggesting that the occurrence rate of subclinical infection with divergent HEV strains has essentially remained unchanged during 1991–2006 in Japan. Future studies are warranted to clarify the mode(s) of HEV transmission that may be responsible for the stable occurrence of clinical and, mostly, subclinical HEV infections over the past several decades in humans living in industrialized countries, where a significant proportion of the general population have HEV antibodies, but hepatitis E is believed to be non- or low-endemic.

Acknowledgments

This study was supported in part by grants from the Ministry of Health, Labor and Welfare of Japan, and the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan.

References

1. Abe T, Aikawa T, Akahane Y, Arai M, Asahina Y, Atarashi Y, Chayama K, Harada H, Hashimoto N, Hori A, Ichida T, Ikeda H, Ishikawa A, Ito T, Kang JH, Karino Y, Kato H, Kato M, Kawakami M, Kitajima N, Kitamura T, Masaki N, Matsubayashi K, Matsuda H, Matsui A, Michitaka K, Mihara H, Miyaji K, Miyakawa H, Mizuo H, Mochida S, Moriyama M, Nishiguchi S, Okada K, Saito H, Sakugawa H, Shibata M, Suzuki K, Takahashi K, Yamada G, Yamamoto K, Yamanaka T, Yamato H, Yano K, Mishiro S (2006) Demographic, epidemiological, and virological characteristics of hepatitis E virus infections in Japan based 254 human cases collected nationwide. *Kanzo* 47: 384–391
2. Amon JJ, Drobeniuc J, Bower WA, Magana JC, Escobedo MA, Williams IT, Bell BP, Armstrong GL (2006) Locally acquired hepatitis E virus infection, El Paso, Texas. *J Med Virol* 78: 741–746
3. Buisson Y, Grandadam M, Nicand E, Cheval P, van Cuyck-Gandre H, Innis B, Rehel P, Coursaget P, Teyssou R, Tsarev S (2000) Identification of a novel hepatitis E virus in Nigeria. *J Gen Virol* 81: 903–909
4. Emerson SU, Anderson D, Arankalle A, Meng XJ, Purdy M, Schlauder GG, Tsarev SA (2004) Hepatitis E virus. In: Fauquet CM, Mayo MA, Maniloff J, Desselberger U, Ball LA (ed) *Virus taxonomy. The Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Elsevier/Academic Press, London, pp 851–855
5. Erker JC, Desai SM, Schlauder GG, Dawson GJ, Mushahwar IK (1999) A hepatitis E virus variant from the United States: molecular characterization and transmission in cynomolgus macaques. *J Gen Virol* 80: 681–690
6. Felsenstein J (1985) Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783–791
7. Fukuda S, Sunaga J, Saito N, Fujimura K, Itoh Y, Sasaki M, Tsuda F, Takahashi M, Nishizawa T, Okamoto H (2004) Prevalence of antibodies to hepatitis E virus among Japanese blood donors: identification of three blood donors infected with a genotype 3 hepatitis E virus. *J Med Virol* 73: 554–561
8. Harrison TJ (1999) Hepatitis E virus—an update. *Liver* 19: 171–176
9. Hsieh SY, Meng XJ, Wu YH, Liu ST, Tam AW, Lin DY, Liaw YF (1999) Identity of a novel swine hepatitis E virus in Taiwan forming a monophyletic group with Taiwan isolates of human hepatitis E virus. *J Clin Microbiol* 37: 3828–3834
10. Ijaz S, Arnold E, Banks M, Bendall RP, Cramp ME, Cunningham R, Dalton HR, Harrison TJ, Hill SF, Macfarlane L, Meigh RE, Shafi 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
11. Ina Y (1994) ODEN: a program package for molecular evolutionary analysis and database search of DNA and amino acid sequences. *Comput Appl Biosci* 10: 11–12
12. Inoue J, Nishizawa T, Takahashi M, Aikawa T, Mizuo H, Suzuki K, Shimosegawa T, Okamoto H (2006) Analysis of the full-length genome of genotype 4 hepatitis E virus isolates from patients with fulminant or acute self-limited hepatitis E. *J Med Virol* 78: 476–484
13. Jacobsen KH, Koopman JS (2004) Declining hepatitis A seroprevalence: a global review and analysis. *Epidemiol Infect* 132: 1005–1022
14. Koonin EV, Gorbalenya AE, Purdy MA, Rozanov MN, Reyes GR, Bradley DW (1992) Computer-assisted assignment of functional domains in the nonstructural polyprotein of hepatitis E virus: delineation of an additional group of positive-strand RNA plant and animal viruses. *Proc Natl Acad Sci USA* 89: 8259–8263
15. Kwo PY, Schlauder GG, Carpenter HA, Murphy PJ, Rosenblatt JE, Dawson GJ, Mast EE, Krawczynski K, Balan V (1997) Acute hepatitis E by a new isolate acquired in the United States. *Mayo Clin Proc* 72: 1133–1136

16. Li TC, Zhang J, Shinzawa H, Ishibashi M, Sata M, Mast EE, Kim K, Miyamura T, Takeda N (2000) Empty virus-like particle-based enzyme-linked immunosorbent assay for antibodies to hepatitis E virus. *J Med Virol* 62: 327–333
17. Li TC, Chijiwa K, Sera N, Ishibashi T, Etoh Y, Shinohara Y, Kurata Y, Ishida M, Sakamoto S, Takeda N, Miyamura T (2005) Hepatitis E virus transmission from wild boar meat. *Emerg Infect Dis* 11: 1958–1960
18. Li TC, Miyamura T, Takeda N (2007) Detection of hepatitis E virus RNA from the bivalve Yamato-Shijimi (*Corbicula japonica*) in Japan. *Am J Trop Med Hyg* 76: 170–172
19. 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
20. Maila HT, Bowyer SM, Swanepoel R (2004) Identification of a new strain of hepatitis E virus from an outbreak in Namibia in 1995. *J Gen Virol* 85: 89–95
21. Mansuy JM, Peron JM, Abravanel F, Poirson H, Dubois M, Miedouge M, Vischi F, Alric L, Vinel JP, Izopet J (2004) Hepatitis E in the south west of France in individuals who have never visited an endemic area. *J Med Virol* 74: 419–424
22. Matsubayashi K, Nagaoka Y, Sakata H, Sato S, Fukai K, Kato T, Takahashi K, Mishiro S, Imai M, Takeda N, Ikeda H (2004) Transfusion-transmitted hepatitis E caused by apparently indigenous hepatitis E virus strain in Hokkaido, Japan. *Transfusion* 44: 934–940
23. Matsuda H, Okada K, Takahashi K, Mishiro S (2003) Severe hepatitis E virus infection after ingestion of uncooked liver from a wild boar. *J Infect Dis* 188: 944
24. Meng XJ (2003) Swine hepatitis E virus: cross-species infection and risk in xenotransplantation. *Curr Top Microbiol Immunol* 278: 185–216
25. Meng XJ (2005) Hepatitis E as a zoonotic disease. In: Thomas HC, Lemon S, Zuckerman AJ (ed) *Viral hepatitis*, 3rd edn. Blackwell, Malden, MA, pp 611–623
26. Mine H, Emura H, Miyamoto M, Tomono T, Minegishi K, Murokawa H, Yamanaka R, Yoshikawa A, Nishioka K, Japanese Red Cross NAT Research Group (2003) High Throughput screening of 16 million serologically negative blood donors for hepatitis B virus, hepatitis C virus and human immunodeficiency virus type-1 by nucleic amplification testing with specific and sensitive multiplex reagent in Japan. *J Virol Methods* 112: 145–151
27. Mitsui T, Tsukamoto Y, Yamazaki C, Masuko K, Tsuda F, Takahashi M, Nishizawa T, Okamoto H (2004) Prevalence of hepatitis E virus infection among hemodialysis patients in Japan: evidence for infection with a genotype 3 HEV by blood transfusion. *J Med Virol* 74: 563–572
28. Mitsui T, Tsukamoto Y, Suzuki S, Yamazaki C, Masuko K, Tsuda F, Takahashi M, Tsatsralt-Od B, Nishizawa T, Okamoto H (2005) Serological and molecular studies on subclinical hepatitis E virus infection using periodic serum samples obtained from healthy individuals. *J Med Virol* 76: 526–533
29. Mitsui T, Tsukamoto Y, Hirose A, Suzuki S, Yamazaki C, Masuko K, Tsuda F, Endo K, Takahashi M, Okamoto H (2006) Distinct changing profiles of hepatitis A and E virus infection among patients with acute hepatitis, patients on maintenance hemodialysis and healthy individuals in Japan. *J Med Virol* 78: 1015–1024
30. Mizuo H, Suzuki K, Takikawa Y, Sugai Y, Tokita H, Akahane Y, Itoh K, Gotanda Y, Takahashi M, Nishizawa T, Okamoto H (2002) Polyphyletic strains of hepatitis E virus are responsible for sporadic cases of acute hepatitis in Japan. *J Clin Microbiol* 40: 3209–3218
31. Mizuo H, Yazaki Y, Sugawara K, Tsuda F, Takahashi M, Nishizawa T, Okamoto H (2005) Possible risk factors for the transmission of hepatitis E virus and for the severe form of hepatitis E acquired locally in Hokkaido, Japan. *J Med Virol* 76: 341–349
32. Nishizawa T, Takahashi M, Mizuo H, Miyajima H, Gotanda Y, Okamoto H (2003) Characterization of Japanese swine and human hepatitis E virus isolates of genotype IV with 99% identity over the entire genome. *J Gen Virol* 84: 1245–1251
33. Okamoto H, Takahashi M, Nishizawa T (2003) Features of hepatitis E virus infection in Japan. *Intern Med* 42: 1065–1071
34. Pina S, Buti M, Cotrina M, Piella J, Girones R (2000) HEV identified in serum from humans with acute hepatitis and in sewage of animal origin in Spain. *J Hepatol* 33: 826–833
35. Preiss JC, Plentz A, Engelmann E, Schneider T, Jilg W, Zeitz M, Duchmann R (2006) Autochthonous hepatitis E virus infection in Germany with sequence similarities to other European isolates. *Infection* 34: 173–175
36. Purcell RH, Emerson SU (2001) Hepatitis E virus. In: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, Martin MA, Lamb RA, Roizman B, Straus SE (ed) *Fields virology*, 4th edn. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, pp 3051–3061
37. Sadler GJ, Mells GF, Shah NH, Chesner IM, Walt RP (2006) UK acquired hepatitis E – an emerging problem? *J Med Virol* 78: 473–475
38. Saitou N, Nei M (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol* 4: 406–425
39. Schlauder GG, Mushahwar IK (2001) Genetic heterogeneity of hepatitis E virus. *J Med Virol* 65: 282–292
40. Smith JL (2001) A review of hepatitis E virus. *J Food Prot* 64: 572–586
41. Sonoda H, Abe M, Sugimoto T, Sato Y, Bando M, Fukui E, Mizuo H, Takahashi M, Nishizawa T, Okamoto H (2004) Prevalence of hepatitis E virus (HEV) infection

- in wild boars and deer and genetic identification of a genotype 3 HEV from a boar in Japan. *J Clin Microbiol* 42: 5371–5374
42. Suzuki K, Aikawa T, Okamoto H (2002) Fulminant hepatitis E in Japan. *N Engl J Med* 347: 1456
 43. Takahashi K, Iwata K, Watanabe N, Hatahara T, Ohta Y, Baba K, Mishiro S (2001) Full-genome nucleotide sequence of a hepatitis E virus strain that may be indigenous to Japan. *Virology* 287: 9–12
 44. Takahashi K, Kang JH, Ohnishi S, Hino K, Mishiro S (2002) Genetic heterogeneity of hepatitis E virus recovered from Japanese patients with acute sporadic hepatitis. *J Infect Dis* 185: 1342–1345
 45. Takahashi M, Nishizawa T, Yoshikawa A, Sato S, Isoda N, Ido K, Sugano K, Okamoto H (2002) Identification of two distinct genotypes of hepatitis E virus in a Japanese patient with acute hepatitis who had not travelled abroad. *J Gen Virol* 83: 1931–1940
 46. Takahashi M, Nishizawa T, Miyajima H, Gotanda Y, Iita T, Tsuda F, Okamoto H (2003) Swine hepatitis E virus strains in Japan form four phylogenetic clusters comparable with those of Japanese isolates of human hepatitis E virus. *J Gen Virol* 84: 851–862
 47. Takahashi M, Kusakai S, Mizuo H, Suzuki K, Fujimura K, Masuko K, Sugai Y, Aikawa T, Nishizawa T, Okamoto H (2005) Simultaneous detection of immunoglobulin A (IgA) and IgM antibodies against hepatitis E virus (HEV) is highly specific for diagnosis of acute HEV infection. *J Clin Microbiol* 43: 49–56
 48. Takahashi M, Nishizawa T, Tanaka T, Tsatsralt-Od B, Inoue J, Okamoto H (2005) Correlation between positivity for immunoglobulin A antibodies and viraemia of swine hepatitis E virus observed among farm pigs in Japan. *J Gen Virol* 86: 1807–1813
 49. Tam AW, Smith MM, Guerra ME, Huang C, Bradley DW, Fry KE, Reyes GR (1991) Hepatitis E virus (HEV): molecular cloning and sequence of the full-length viral genome. *Virology* 185: 120–130
 50. Tanaka E, Takeda N, Li TC, Orii K, Ichijo T, Matsumoto A, Yoshizawa K, Iijima T, Takayama T, Miyamura T, Kiyosawa K (2001) Seroepidemiological study of hepatitis E virus infection in Japan using a newly developed antibody assay. *J Gastroenterol* 36: 317–321
 51. Tanaka E, Matsumoto A, Takeda N, Li TC, Umemura T, Yoshizawa K, Miyakawa Y, Miyamura T, Kiyosawa K (2005) Age-specific antibody to hepatitis E virus has remained constant during the past 20 years in Japan. *J Viral Hepat* 12: 439–442
 52. Tei S, Kitajima N, Takahashi K, Mishiro S (2003) Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings. *Lancet* 362: 371–373
 53. Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ (1994) CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res* 22: 4673–4680
 54. Velazquez O, Stetler HC, Avila C, Ornelas G, Alvarez C, Hadler SC, Bradley DW, Sepulveda J (1990) Epidemic transmission of enterically transmitted non-A, non-B hepatitis in Mexico, 1986–1987. *JAMA* 263: 3281–3285
 55. Waar K, Herremans MM, Vennema H, Koopmans MP, Benne CA (2005) Hepatitis E is a cause of unexplained hepatitis in The Netherlands. *J Clin Virol* 33: 145–149
 56. Wang Y, Zhang H, Ling R, Li H, Harrison TJ (2000) The complete sequence of hepatitis E virus genotype 4 reveals an alternative strategy for translation of open reading frames 2 and 3. *J Gen Virol* 81: 1675–1686
 57. Yazaki Y, Mizuo H, Takahashi M, Nishizawa T, Sasaki N, Gotanda Y, Okamoto H (2003) Sporadic acute or fulminant hepatitis E in Hokkaido, Japan, may be food-borne, as suggested by the presence of hepatitis E virus in pig liver as food. *J Gen Virol* 84: 2351–2357
 58. Zafrullal M, Ozdener MH, Oanda SK, Jameel S (1997) The ORF3 protein of hepatitis E virus is a phosphoprotein that associates with cytoskeleton. *J Virol* 71: 9045–9053

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 2007年10月21日	新医薬品等の区分 該当なし	厚生労働省処理欄
一般的名称	①ポリエチレングリコール処理抗破傷風人免疫グロブリン ②乾燥抗破傷風人免疫グロブリン		研究報告の 公表状況	第 55 回日本ウイルス学会学 術集会 2P207	公表国 日本	
販売名 (企業名)	①テタノブリン-IH (ベネシス) ②テタノブリン (ベネシス)					
研究報告の概要	<p>【目的と意義】 E型肝炎は人獣共通感染症として認識されており、E型肝炎ウイルス (HEV) に感染した動物の生肉を食することによるヒトへの感染が、我が国における第1の感染経路となっている。また、感染ドナーからの輸血による2次感染例も報告されている。そのため、これらの感染経路における安全施策が重要な課題となっている。ウイルスに対する安全対策として、血液製剤の製造工程には、ウイルス除去膜によるろ過や液状加熱処理が導入されている。私達は、ウイルス除去膜や液状加熱に対する HEV の性状を調査することにより、HEV への安全対策における基礎データの取得を試みた。</p> <p>【材料と方法】 HEV に感染した豚糞便より精製した、ORF2 領域の Genome sequencing において cluster の異なる 4 種類の HEV を得た。これらをスパイクウイルスとして使用し、PLANOVA75N、35N、20N 及び 15N (旭化成メディカル) を用いたろ過実験による HEV の挙動について検討した。ウイルス量はろ過前後の HEV RNA ゲノム量を RT-PCR にて測定し、各 HEV の PLANOVA による除去効果を調べた。また、PBS 及びアルブミン含有溶液組成中で 60℃ の加熱を行い、0、0.5、1、2 及び 5 時間目の感染能の推移についても調べた。ウイルスの感染能については、希釈系列を作成したウイルス液を A549 細胞 (ヒト肺癌細胞) に感染させ、7 日間培養した後、細胞中の HEV-RNA を RT-PCR により検出した。</p> <p>【結果と考察】 ウイルス除去膜によるろ過実験においては、4 株とも PLANOVA15N 及び 20N で検出限界以下にまで HEV が除去されることが確認され、これまで報告されている HEV の粒子径とほぼ一致する挙動を示した。また、HEV の液状加熱では、溶液組成により HEV の不活化効果に差が生じることが示唆された。すなわち、4 株とも PBS 組成では加熱開始後短時間で検出限界以下まで不活化されたが、アルブミン存在下においては、4 株とも加熱開始後 5 時間目においても測定限界以下にまで不活化されることはなかった。これまで HEV は熱に弱いと考えられていたが、溶媒組成や共存タンパク等によって保護作用が生じ、条件によって異なる不活化効果を示すことが示唆された。この結果は、血液製剤や加工食品において慎重に本ウイルスの不活化効果を検討しなければならないことを示している。</p>					<p>使用上の注意記載状況・ その他参考事項等</p> <p>代表としてテタノブリン-IH の記載を示す。 2. 重要な基本的注意 (1) 本剤の原材料となる血液については、HBs 抗原、抗 HCV 抗体、抗 HIV-1 抗体、抗 HIV-2 抗体陰性で、かつ ALT (GPT) 値でスクリーニングを実施している。更に、プールした試験血漿については、HIV-1、HBV 及び HCV について核酸増幅検査 (NAT) を実施し、適合した血漿を本剤の製造に使用しているが、当該 NAT の検出限界以下のウイルスが混入している可能性が常に存在する。本剤は、以上の検査に適合した高力価の破傷風抗毒素を含有する血漿を原料として、Cohn の低温エタノール分画で得た画分からポリエチレングリコール 4000 処理、DEAE セファデックス処理等により抗破傷風人免疫グロブリンを濃縮・精製した製剤であり、ウイルス不活化・除去を目的として、製造工程において 60℃、10 時間の液状加熱処理及び濾過膜処理 (ナノフィルトレーション) を施しているが、投与に際しては、次の点に十分注意すること。</p>
	報告企業の意見				今後の対応	
<p>これまで HEV は熱に弱いと考えられていたが、アルブミン存在下の 60℃、5 時間処理では検出限界以下まで不活化されなかったとの報告である。 本剤から HEV が伝播したとの報告はない。万一原料血漿に HEV が混入したとしても、EMC および CPV をモデルウイルスとしたウイルスバリデーション試験成績から、製造工程において十分に不活化・除去されると考えている。</p>				<p>モデルウイルスを用いたウイルスバリデーション試験に加えて、必要に応じて実ウイルスを用いた工程評価を実施する。</p>		



Vertical text on the right side of the page, possibly a page number or reference.

2P206

カンボジアにおける河川・地下水からの腸管系ウイルスの検出

松原康一¹⁾、北島正章¹⁾、原本英司²⁾、片山浩之¹⁾、大垣眞一郎¹⁾東京大学 工学系研究科 都市工学専攻¹⁾、
国立保健医療科学院 水道工学部²⁾

✉ matsubara@env.t.u-tokyo.ac.jp

【目的と意義】

ロタウイルスやノロウイルスなど腸管系ウイルスの開発途上国における重要性が明らかになりつつあるが、疫学情報システム整備の未発達のためウイルスの流行や感染リスクについて得られる情報は限られている。環境水中からのウイルス検出は、生活用水の直接摂取による感染リスクの定量が可能な点、家庭からの排水が集まる河川等において地域のウイルス発生・流行を把握することが可能な点で非常に重要である。本研究では、環境水試料からのウイルス濃縮法を途上国での調査に対して適応し、カンボジアにおける水環境のウイルス汚染状況調査を行った。

【材料と方法】

カンボジア・シェムリアップ州を中心に地下水および河川水を採水し、河川水 50mL、地下水 1L をマグネシウム添加・酸洗浄・アルカリ誘出法 (Katayama et al., 2002 Appl. Environ. Microbiol. 68:1033-1039) によって 5mL まで現地での濃縮を行った。対象地域の地下水および河川水に含まれる粘土質の懸濁成分による膜の目詰まりを解消するため、濃縮時にガラスファイバー紙 (GF/D, Whatman) を用いて前ろ過する改良を加えた。濃縮した試料は東京大学の実験室まで持ち帰り、RNA 抽出および逆転写、または DNA 抽出の後、TaqMan PCR に供しウイルスを検出した。また、糞便性汚染指標として大腸菌・大腸菌群を mColiBlue broth (Millipore) を用いて現地にて分析した。

【結果と考察】

地下水および河川水から、E 型肝炎ウイルス (陽性率 1/10)、A 群ロタウイルス (同 2/10)、腸管アデノウイルス (同 1/10)、A 型肝炎ウイルス (同 1/10)、ノロウイルス G1 型、G2 型 (同各 1/10)、エンテロウイルス (同 1/10) が検出された。大腸菌・大腸菌群濃度が高い地点とウイルスの検出状況は一致しなかった。本研究はカンボジアにおいて環境水中から TaqManPCR によって E 型肝炎ウイルスを検出した最初の報告であり、地域に感染者が存在し潜在的なリスクがあることを示すものである。環境水中に非常に低濃度で存在したと考えられるウイルスを検出できたことから、本研究で用いたウイルス濃縮・検出方法は遠隔地での水系ウイルスのモニタリングに対しても簡便かつ高感度に水中ウイルスを検出する方法として有効であることが示された。

2P207

E型肝炎ウイルスの液状加熱及びウイルス除去膜による除去実効

田中宏幸¹⁾、服部眞次²⁾、辻川宗男³⁾、久保純¹⁾、
浦山健^{1,2)}、柚木幹弘^{1,2)}、安江博³⁾、萩原克郎¹⁾、
生田和良²⁾株式会社ベネシス 研究開発本部 枚方研究所¹⁾、
大阪大学 微生物病研究所 ウイルス免疫分野²⁾、
独立行政法人農業生物資源研究所³⁾、
酪農学園大学 獣医学部⁴⁾

✉ Tanaka.Hiroyuki@mh.m-pharma.co.jp

【目的と意義】

E 型肝炎は人獣共通感染症として認識されており、E 型肝炎ウイルス (HEV) に感染した動物の生肉を食することによるヒトへの感染が、我が国における第 1 の感染経路となっている。また、感染ドナーからの輸血による 2 次感染例も報告されている。そのため、これらの感染経路における安全施策が緊要な課題となっている。ウイルスに対する安全対策として、血液製剤の製造工程には、ウイルス除去膜によるろ過や液状加熱処理が導入されている。私達は、ウイルス除去膜や液状加熱に対する HEV の性状を調査することにより、HEV への安全対策における基礎データの取得を試みた。

【材料と方法】

HEV に感染した豚糞便より精製した、ORF2 領域の Genome sequencing において cluster の異なる 4 種類の HEV を得た。これらをスパイクウイルスとして使用し、PLANOVA75N、35N、20N 及び 15N (旭化成メディカル) を用いたろ過実験による HEV の挙動について検討した。ウイルス量はろ過前後の HEV-RNA ゲノム量を RT-PCR にて測定し、各 HEV の PLANOVA による除去効果を調べた。また、PBS 及びアルブミン含有溶液組成中で 60℃ の加熱を行い、0、0.5、1、2 及び 5 時間目の感染能の推移についても調べた。ウイルスの感染能については、希釈系列を作成したウイルス液を A549 細胞 (ヒト肺癌細胞) に感染させ、7 日間培養した後、細胞中の HEV-RNA を RT-PCR により検出した。

【結果と考察】

ウイルス除去膜によるろ過実験においては、4 株とも PLANOVA15N 及び 20N で検出限界以下にまで HEV が除去されることが確認され、これまで報告されている HEV の粒子径とはほぼ一致する挙動を示した。また、HEV の液状加熱では、溶液組成により HEV の不活化効果に差が生じることが示唆された。すなわち、4 株とも PBS 組成では加熱開始後短時間で検出限界以下まで不活化されたが、アルブミン存在下においては、4 株とも加熱開始後 5 時間目においても測定限界以下にまで不活化されることはなかった。これまで HEV は熱に弱いと考えられていたが、溶媒組成や共存タンパク等によって保護作用が生じ、条件によって異なる不活化効果を示すことが示唆された。この結果は、血液製剤や加工食品において慎重に本ウイルスの不活化効果を検討しなければならないことを示している。

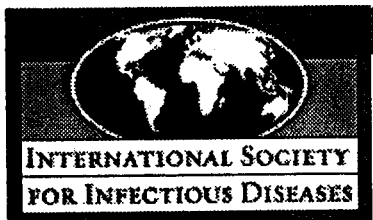
Faint, illegible text on the left side of the page, possibly bleed-through from the reverse side.

Faint, illegible text on the right side of the page, possibly bleed-through from the reverse side.

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 2007. 10. 2	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	ProMED 20070930-3228, 2007 Sep 30. 情報源: The Sunday Mail (Qld), 2007 Sep 29.	公表国	
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)				オーストラ リア	
研究報告の概要	<p>○ロスリバーウイルス感染症例急増 オーストラリア、クイーンズランド州で異常発生した蚊がロスリバーウイルス感染を拡大させている。過去4週間の症例数は93例で、過去5年間の同期間の平均32例の約3倍まで増加している。このウイルスは通常は北部の暑い地方で流行しているが、南のブリスベーン地区の過去4週間の感染者数は31例と、前年同時期の7例と比較して4.5倍に達した。これは、通常症例数が最高となる晩夏から初秋の時期と同等であり、この時期としては異常に多い。保健当局は、長い乾期と8月末の季節はずれの土砂降りによって、蚊の産卵時期が3ヵ月早まったと伝えている。 ロスリバーウイルス感染の症状は微熱、紅斑、関節痛である。ワクチンや治療法はなく、罹患した場合は症状が治まるのを待つしかないが、回復までに3ヶ月以上かかる場合もある。人から人へ感染することはないが、蚊の媒介で動物から人に感染が拡大する。 当局は人々に蚊に刺されないように注意することと、溜まり水の除去などの対策を行うよう呼びかけた。蚊の成長を阻害するホルモン剤の散布が実施されている。</p>					使用上の注意記載状況・ その他参考事項等
	<p>赤血球濃厚液-LR「日赤」 照射赤血球濃厚液-LR「日赤」</p> <p>血液を介するウイルス、 細菌、原虫等の感染 vCJD等の伝播のリスク</p>					
報告企業の意見			今後の対応			
オーストラリア、クイーンズランド州で異常発生した蚊が、ロスリバーウイルス感染を拡大させ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問診時に海外渡航歴の有無を確認し、帰国(入国)後4週間は献血不適としている。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。			

57



Navigation

Home

Subscribe/Unsubscribe

Search Archives

Announcements

Recalls/Alerts

Calendar of Events

Maps of Outbreaks

Submit Info

FAQs

Who's Who

Awards

Citing ProMED-mail

Links

Donations

About ProMED-mail

[Back](#)

Archive Number 20070930.3228

Published Date 30-SEP-2007

Subject PRO/AH/EDR> Ross River virus - Australia (QLD)

ROSS RIVER VIRUS - AUSTRALIA (QUEENSLAND)

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: 30 Sep 2007

Source: The Sunday Mail (Qld) [edited]

<<http://www.news.com.au/couriermail/story/0,23739,22502731-3102,00.html>>

Unusually high numbers of mosquitoes are spreading the debilitating Ross River virus across the state, with the number of cases soaring by almost 300 percent.

The virus is usually more prevalent in the tropical north, but figures show the number of people infected in the southern Brisbane area in the past 4 weeks is almost 450 percent higher than in the same period last year [2006].

Health bosses are warning people to take precautions against being bitten and are stepping up spraying programs to tackle the problem. They say the long dry spell and the unseasonable downpours at the end of last month [August 2007] have caused mosquitoes to breed 3 months early.

New figures released to The Sunday Mail by Queensland Health reveal there were 93 reported cases of Ross River infection in the past 4 weeks, compared with an average 32 cases in the same period for each of the past 5 years [2002-2006].

North of Mackay, 30 cases were reported; 32 in the central area, which takes in central Queensland and extends south to Brisbane, north of the river; and 31 cases were reported in the southern area, which runs from south of the river in Brisbane to the New South Wales border.

The southern Brisbane figures compare with just 7 in the same period last year [2006]. Dozens more cases are believed to have gone unrecorded or undiagnosed.

Queensland Health said the numbers were unusually high for this time of year, with the highest numbers usually occurring in late summer and early autumn.

Symptoms of Ross River virus include a mild fever, rash, and joint pain, which is similar to arthritis.

Dr Michael Whitby, an infection spokesman for the Australian Medical Association Queensland, said symptoms could vary but the disease could often become debilitating, causing people to take months off work.

"Unfortunately there is no vaccine available, and the arthritis treatment doesn't often do any good," he said. "All people can really do is to wait until it goes away. This can take 3 months or sometimes even longer."

The infection cannot be spread from human to human but can be spread

from animals to humans via mosquitoes. It is confirmed with a blood test taken by a GP.

Councils across the state are already spending millions in a bid to control the mosquitoes before the summer hits. Aerial and land-based spraying has already been carried out across the state, on tidal drains and sites near water.

Health officers at Brisbane City Council have launched an AUD 3.4 million [USD 3 million] mosquito prevention program after receiving about 120 complaints about mosquitoes since 1 Sep 2007, with most from residents in suburbs beside salt marsh areas from Deagon to Wynnum West.

A Brisbane City Council spokesman said: "The rain in August 2007 generated widespread hatching of Brisbane's salt marsh mosquitoes across all the tidal areas from Brighton to Tingalpa. There has also been much activity from a range of freshwater breeding mosquito species right across the city and southeast Queensland."

The spokesman urged residents to be vigilant around their homes. "Container-breeding mosquitoes are very active right now after the rain and will use any receptacle that holds water," he said. "We advise that any drums or buckets being used to store water should be covered, and any rubbish that holds water should be discarded. Mosquito screens on tanks, on both inlet and overflow pipes, should also be checked and kept in place."

On the Sunshine Coast, councils are dumping large amounts of hormone-laced sand on mosquito breeding grounds as part of an AUD one million [USD 885 000] outbreak prevention project.

The hormone, which stunts the growth of juvenile mosquitoes but doesn't harm other insects, was dropped in Caloundra, Buderim, Bli-Bli, Coolum, Noosa, Noosa's North Shore and Peregian Beach.

[Byline: Hannah Davies and Lou Robson]

--

Communicated by:
 ProMED-mail <promed@promedmail.org>

[Mod. CP provided an excellent summary of the Ross River virus situation in Australia in archive no. [20040403.0916](#):

"Epidemics of benign polyarthrititis were recorded in Australia as early as 1927, and the etiologic agent was isolated in 1963. Ross River virus was shown to be a mosquito-transmitted virus belonging to the genus Alphavirus of the family Togaviridae. Ross River virus is endemic in most coastal regions of Australia and since the 1980's appears to have extended its geographical range to include most of the island communities of the South Pacific. The animal reservoir species are various, and humans exhibit a significant viraemia such that some epidemics are maintained in a human-mosquito-human transmission cycle. The mosquito vectors vary according to the local environment. Fortunately, illness in humans -- although occasionally prolonged and painful -- is not fatal, and recovery is complete."

Although recovery from Ross River virus infection is complete, symptoms may persist for years. With high incidence of Ross River virus infection early this spring [2007], one wonders whether virus transmission will accelerate as warmer spring to summer conditions progress. ProMED requests further information about this year's outbreak and the effectiveness of hormone (presumably target-specific insect juvenile hormone) wetland treatment for vector mosquito control as it becomes available.

A map of Australia showing the location of Queensland can be accessed at:
http://www.lib.utexas.edu/maps/australia/australia_pol99.jpg.
 - Mod.TY]

[see also:
 2006

Ross River virus - Australia (02): VIC [20060204.0363](#)
 Ross River virus - Australia: NSW, SA [20060114.0138](#)

2005

 Ross River virus - New Zealand (Waikato) ex Australia (NT) 20050120.0195
 2004

 Ross River virus - Australia (QLD) 20040403.0916
 Ross River virus - Australia (QLD) (02): background 20040404.0928
 Ross River virus - Australia (WA) (03) 20040105.0049
 Ross River virus - Australia (WA) (04) 20040427.1165

2003

 Ross River virus - Australia (WA) (02) 20031230.3170
 Ross river virus - Australia (WA): alert 20031008.2529
 Ross River/Barmah Forest viruses - Australia (NSW) 20030628.1597
 2002

 Ross river virus - Australia (Tasmania) (03) 20020821.5105
 Ross River Virus - Australia (Tasmania) 20020410.3927
 2001

 Ross River virus - Australia (South) 20010320.0560
 Ross River virus - Australia (North. Territory) (03) 20010225.0367
 Ross River virus - Australia 20010116.0127
 Ross River virus - Australia (Northern Territory) 20010108.0062
 2000

 Ross River virus - Australia (South Australia): ALERT 20001229.2292
 Ross River/Barmah virus - Australia (SW): alert 20000123.0115
 1999

 Ross River virus - Australia (Tasmania) (02) 19991222.2198
 Ross River virus - Australia (West): alert 19991106.1989
 Ross River virus - Australia (Tasmania) 19990311.0371
 1998

 Ross River virus infection - Australia 19981231.2472
 Ross River virus - Australia (New South Wales) (02) 19980112.0087
 Ross River virus - Australia (New South Wales) 19980109.0067
 1997

 Ross River virus, military exercises: Australia 19970728.1587
 Ross River fever - Australia (03) 19970605.1172
 Ross River, Barmah Forest viruses - Australia 19970604.1162
 Ross River fever - Australia (02) 19970604.1161
 Ross River fever - Australia (Sydney) 19970602.1126]
ty/msp/dk

 ProMED-mail makes every effort to verify the reports that are posted, but the accuracy and completeness of the information, and of any statements or opinions based thereon, are not guaranteed. The reader assumes all risks in using information posted or archived by ProMED-mail. ISID and its associated service providers shall not be held responsible for errors or omissions or held liable for any damages incurred as a result of use or reliance upon posted or archived material.

 Become a ProMED-mail Premium Subscriber at
 <<http://www.isid.org/ProMEDMailPremium.shtml>>

 Visit ProMED-mail's web site at <<http://www.promedmail.org>>. Send all items for posting to: promed@promedmail.org (NOT to an individual moderator). If you do not give your full name and affiliation, it may not be posted. Send commands to subscribe/unsubscribe, get archives, help, etc. to: majordomo@promedmail.org. For assistance from a human being send mail to: owner-promed@promedmail.org.

[13th ICID](#) | [site map](#) | [ISID home](#)

©2001,2007 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](#).

