

血企第503号
平成15年12月22日

厚生労働省医薬食品局血液対策課長 様

日本赤十字社 事業局長

血液製剤に関する報告事項等について

平成15年12月9日付事務連絡によりご依頼のありました標記の件については、下記のとおり回答いたします。

記

血液製剤に関する報告事項

第1 平成15年10月24日に開催された平成15年度第3回血液事業部会において報告された「輸血用血液の安全対策について」のその後の進捗状況

⇒別紙1のとおり

第2 平成15年10月1日付けで報告された輸血用血液製剤で緑膿菌の感染が疑われる事例に係る以下の事項

① 輸血された人赤血球濃厚液の原料血液から製造された新鮮凍結血漿の検査結果（検査を実施した施設ごとに示すこと。）

⇒試料：該当新鮮凍結血漿4本

1) 無菌試験および澁末試験結果

・公立衛生研究所 無菌試験結果は、4本全てについて「適」
澁末試験結果は、4本全てについて「検出せず」

2) 培養試験結果

・大学病院細菌検査室 4本全てについて好気性菌・嫌気性菌 「陰性」

3) エンドトキシン検査結果

・民間衛生検査所 4本全てについて「5.0pg/ml以下」
(基準値10以下)

4) 抗顆粒球抗体に関する検査結果

・日本赤十字社中央血液センター 4本全てについて「陰性」

5) 抗HLA抗体に関する検査結果

・日本赤十字社中央血液センター 4本全てについて「陰性」

② 国内外の輸血用血液の細菌汚染事例のうち、新鮮凍結血漿から細菌が検出された事例に関する論文または報告

⇒ ヒトの血漿中には25℃までは種々の細菌が残存する可能性を示した報告⁹⁾、無菌試験の結果、新鮮凍結血漿中の細菌の存在を認めたとする報告^{2),3)}等が存在する。

日本赤十字社が平成10年度から平成12年度に生物学的製剤基準に基づき実施した無菌試験において菌が検出されたのは、人全血液 6,977 件中 2 件(0.03%)、人赤血球濃厚液 137,496 件中 53 件(0.04%)、新鮮凍結人血漿 21,813 件中 7 件(0.03%)であった⁴⁾。すなわち、新鮮凍結血漿からも、全血製剤および赤血球製剤とほぼ同率で菌が検出されている。

③ 細菌が検出された人赤血球濃厚液と同じ原料血液から製造された新鮮凍結血漿から細菌が検出されない可能性に関する論文または報告

⇒ 全血にコアグラゼ陰性の *Staphylococcus* を実験的に添加して成分製剤を調製したのについて細菌検査を行った研究において、赤血球は低量接種で 12/19 陽性、高量接種で 16/18 陽性、一方、凍結血漿は低量接種で 4/19 陽性、高量接種で 7/18 陽性であり、凍結の前後での変化はなかったという報告がある⁵⁾。

第3 平成15年10月2日付けで報告された輸血用血液製剤でエルシニアの感染の疑われる事例について、輸血された人赤血球濃厚液の原料血液から製造された新鮮凍結血漿の検査結果(平成15年10月16日付けで報告のあった地方研究所の検査結果以外のものを検査を実施した施設ごとに示すこと。)

⇒ 該当新鮮凍結血漿、人赤血球濃厚液のセグメント中血液、保管検体の血球

1) 培養試験、塗末試験、エルシニア遺伝子検査 (PCR)

・公立衛生研究所Ⅰ 全ての検体について「陰性」又は「菌を認めず」

該当保管検体の血球

2) 培養試験、エルシニア遺伝子検査 (PCR)

・公立衛生研究所Ⅱ 全ての検体について「陰性」

該当新鮮凍結血漿

3) 培養試験

・大学病院細菌検査室 好気性菌・嫌気性菌 「陰性」

該当新鮮凍結血漿及び保管検体の血漿

4) エルシニアに対する抗体検査 (ウィグール反応検査)

・公立衛生研究所Ⅱ 全ての検体について「陰性」

該当新鮮凍結血漿

5) エンドトキシン検査

・民間衛生検査所 「5.0pg/mL 以下」(基準値 10 以下)

第4 平成15年10月22日付けで報告された輸血用血液製剤でG型肝炎ウイルスの感染が疑われる事例に係る以下の事項

① 保管検体から検出されたG型肝炎ウイルスの遺伝子型と受血者から検出された同ウイルスの遺伝子型

⇒ 現在調査中

② G型肝炎ウイルスが検出された血液の供血者に係る以下の事項

1) この事例以外に献血を行った日時(当該は平成15年4月24日)

⇒ 別紙2のとおり

- 2) 上記1)において採血された血液の保管検体の検査結果
⇒ 別紙2のとおり
- 3) 上記1)において採血された血液に由来する血液製剤の使用状況
⇒ 別紙2のとおり
- 4) 上記3)における血液製剤に関する副作用等の報告を行った日時
⇒ 医療機関からの副作用報告はありません

第5 ヒトバルボウイルス B19 関連

- ① ヒトバルボウイルス B19に関する問診の事項
⇒ 別紙3のとおり
- ② 上記①に関して、平成14年度に日本赤十字社に報告された3症例(日本赤十字社中央血液センター医薬情報部作成「輸血情報 0310-77」に掲載されたもの。)及び平成15年11月13日付けで報告された事例における輸血用血液の原料血液を供血した者の問診の結果
⇒ 別紙4のとおり
- ③ 血液製剤の製造工程における同ウイルスに関する検査の内容
⇒ RHA法(Receptor-mediated Hemagglutination).
- ④ 同ウイルスに関する添付文書の記載
⇒ 別紙5のとおり
- ⑤ その他同ウイルスに関する安全対策
⇒ ウイルス不活化の導入やハイリスク患者への対策など輸血専門家等の意見を聞きながら今後の安全対策を検討する予定である

- #### 第6 平成12年8月10日付けで完了報告のあった輸血用血液製剤で肺炎球菌の感染が疑われる事例について、追加情報があれば、その情報
- ⇒ 平成15年9月12日付けで国(安全対策課、血液対策課)に追加情報を報告した以降はありません。

参考文献

1. 遠山博: 輸血の副作用合併症, 輸血学改訂第2版, 中外医学社, 419, 1989.
(原文: Jezkova Z: Frozen human plasma and bacterial contamination. Blut 25: 249-254, 1972.)
2. Illert WE, et al: Bacterial contamination of single-donor blood components. Transfus Med. 5: 57-61, 1995
3. 橋本浩司他: 血液製剤における細菌汚染とその防止策, エフ・コピント富士書院, 173-181, 2002.
4. 日本赤十字社: 輸血情報 0203-69, 2002.
5. Holden, F. et al.: Coagulase-negative staphylococcal contamination of whole blood and its components: the effects of WBC reduction. Transfusion. 40: 1508-1513, 2000.

血漿分画製剤のウイルス安全対策について

第1 通知の実施状況に係る以下の事項

① 通知記の3(1)前段に規定するウイルス・プロセスバリデーションの実施の有無及び実施した場合は、その結果

⇒ 日本赤十字社が製造・供給している乾燥濃縮人血液凝固第Ⅷ因子製剤「クロスエイト M」、人血清アルブミン製剤「赤十字アルブミン 20」、「赤十字アルブミン 25」、抗 HBs 人免疫グロブリン製剤「抗 HBs 人免疫グロブリン『日赤』」については、平成 11 年 8 月 30 日付厚生省医薬安全局長通知「血漿分画製剤のウイルスに対する安全性確保に関するガイドラインについて」に沿ったウイルス・プロセスバリデーションを実施している。その結果を別紙 6 に示した。

② 上記①に関する必要な書類等の整理及び保存の有無

⇒ 当該書類等は製造所の GMP に関する規定に従い、整理保存している。

③ 通知記の3(1)後段に規定するウイルスクリアランス指数が9未満の製剤の有無及び該当する製剤がある場合は、ウイルスの除去・不活化の工程の改善の検討状況

⇒ 日本赤十字社の血漿分画製剤のうち 9 以上のウイルスクリアランス指数を示すことができていない製剤は「抗 HBs 人免疫グロブリン『日赤』」である。今般、9 以上のウイルスクリアランス指数が必要とされたことから、本製剤の製造工程においてウイルス除去効果が期待できるアルコール分画のろ過工程(SⅢのろ過工程)を評価対象に加えることとし、予備試験を行った結果、別紙 7 に示したように、工程全体として 9 以上のウイルスクリアランス指数が得られた。

④ 通知記の3(2)に規定する原料のプールにおける NAT 検査の実施の有無

⇒ 実施している。

⑤ 通知記の6に規定する添付文書の改訂の有無

⇒ (社)日本血液製剤協会添付文書検討委員会で協議し作成した添付文書改訂案について、平成 15 年 12 月 17 日、厚生労働省医薬食品局安全対策課の了承が得られたので、速やかに添付文書を改訂するとともに、「お知らせ文」等を用いた情報伝達を徹底して行う。

⑥ 上記①から⑤について、実施していない事項があれば、当該事項ごとの実施時期の目途若しくは検討状況

⇒ 該当なし

第2 ヒトパルボウイルス B19 が混入した原血漿から製造された血漿分画製剤の安全性評価等に係る以下の事項

① 国内で製造され又は国内に輸入されている血漿分画製剤について同ウイルスの感染が疑われた事例の有無及び該当事例がある場合は、その事例の調査結果

⇒ 人血清アルブミン製剤「赤十字アルブミン 20」、「赤十字アルブミン 25」及び抗 HBs 人免疫グロブリン製剤「抗 HBs 人免疫グロブリン『日赤』」については、これまでに、これらの製剤によるヒトパルボウイルス B19 (以下、B19) 感染が疑われた事例は報告されていない。

一方、乾燥濃縮人血液凝固第Ⅷ因子製剤「クロスエイト M」については、本製剤投与

による一過性の B19 感染が疑われた事例が一例、平成 9 年 9 月に報告されている^{1,2)}。

日本赤十字社では平成 9 年 8 月、「クロスエイト M」の製造工程に孔径 35nm のウイルス除去膜によるナノフィルトレーションを導入し、さらに平成 9 年 9 月には全ての献血血液について B19 の RHA (Receptor-mediated Hemagglutination) 検査を導入しており、その後製造された「クロスエイト M」による感染が疑われた事例は報告されていない。

② 血漿分画製剤の製造工程において同ウイルスの検査の実施の有無及び実施している場合は、混入する理論的可能性のある最大ウイルス量

⇒ 日本赤十字社では全ての献血血液について RHA 検査を実施し、陽性の血漿を排除している。さらに血漿分画製剤の製造用プール血漿及び全ての血漿分画製剤の最終製品について B19 の核酸増幅検査（以下、NAT）を実施している。

製造用プール血漿はその多くで B19 DNA が検出されるが、別添 1 及び 2 の論文に示されているように、献血血液についての RHA 検査導入以降、製造用プール血漿の B19 DNA 含量は著しく減少している。

「赤十字アルブミン 20」、「赤十字アルブミン 25」及び「抗 HB_s 人免疫グロブリン「日赤」」については、RHA 検査実施以前もまた以後も、最終製品において全ロットで NAT 陰性である。一方、「クロスエイト M」については、別添 1 及び 2 の論文に示されているように、製造工程変更の効果も相俟って RHA 検査導入以降、最終製品で NAT 陰性となっている。したがって、いずれの血漿分画製剤についても、最終製品に混入する理論的可能性のある最大ウイルス量は 38 IU/mL (NAT の 95%検出限界) である。

③ 血漿分画製剤の製造工程における同ウイルスに係るウイルス・プロセスバリデーションの実施の有無及び実施している場合は、その結果

⇒ B19 は脂質膜を有しない DNA ウイルスであることから、モデルウイルスとして適切と考えられるブタバルボウイルス (PPV) 及び B19 自体を用いてウイルス・プロセスバリデーションを行っている。その結果を別紙 8 に示した。

参考文献

1. 松井ら：モノクローナル抗体精製第Ⅷ因子製剤によるヒトバルボウイルス B19 感染症にて骨髄低形成性貧血を発症した血友病 A。日本小児血液学会誌 11: 289 (1997)。
2. H.Matsui et al.: Transient Hypoplastic Anemia Caused by Primary Human Parvovirus B19 Infection in a Previously Untreated Patient With Hemophilia Transfused With a Plasma-Derived, Monoclonal Antibody-Purified Factor VIII Concentrate. J.Pediatric Hematology/Oncology 21(1), 74-76 (1999)。
3. A.Omar et al.: Removal of neutralized model parvoviruses and enteroviruses in human IgG solutions by nanofiltration. Transfusion 42, 1005-1010 (2002)。
4. J.Blumel et al.: Inactivation of parvovirus B19 during pasteurization of human serum albumin. Transfusion 42, 1011-1018 (2002)。

安全対策に対する日本赤十字社の取り組み（7項目）

1. 遡及調査自主ガイドライン作成

日本赤十字社では独自の遡及調査のガイドラインを年内を目途に作成中です。まとめ次第、厚生労働省及び審議会（安全技術調査会）での検証をお願いすることとしております。

2. 新鮮凍結血漿（FFP）の貯留保管

献血者の協力を得て、有効期間が1年間のFFPを6か月間貯留保管することで、遡及調査などで判明する感染の疑いのあるFFPが医療機関に供給されることを防ぎます。

まず、2か月間の貯留を平成16年1月に行い、平成17年10月には6か月間の貯留を行います。

3. 輸血用血液の感染性因子の不活化技術の導入

血液に含まれている可能性があるウイルスや細菌などの感染性因子を不活化させて、感染の予防を目指します。

海外で最も承認手続きの進んでいる血小板の不活化法に必要な機器とキットを血液センターに搬入し、ウイルスと細菌を用いて、今年度中に感染性因子の不活化の確認及び技術導入に係る評価を予定しております。

また、最良のものを目指して他の方法についても評価・検討を続けてまいります。

4. 核酸増幅検査（NAT）の精度向上

NATを行う検体のプール数は50本で実施しておりますが、プール数を少なくして検査精度の向上を目指します。

国内外の試薬会社や自動システム開発会社等と共同で大量検体のNATが可能で、より自動化された機器、更に現行以上にウイルスの検出が

可能な試薬の開発を目指しております。今年度中に一つの試薬について検討を始めることとしております。

5. 医療機関での輸血後感染症に関する全数調査

現在の輸血用血液の出庫基準を満たした上で供給している輸血用血液の安全性を検証するために、今年度中に複数の地域で医療機関の協力を得て、輸血前と輸血後の患者さんの追跡調査を1年間させていただくこととしております。

6. E型肝炎ウイルス（HEV）について

厚生労働科学研究班と共同して、全国の血液センターでALT（肝臓に多く含まれる酵素）値が高く輸血に使用されなかった血液について、E型肝炎の原因ウイルスであるHEVの核酸（RNA）と抗体の陽性率を調査し、結果を輸血の安全性に活用いたします。

現在、血液センターでALT値が高く輸血に使用されなかった血液について、HEVのRNAの検査を実施しております。

7. 保存前白血球除去の開始

輸血した血液細胞（白血球中のリンパ球）が原因でおこる発熱などの輸血副作用の予防を目指します。

成分採血由来の血小板製剤については、採血用キットを製造しているメーカーでフィルター付キットの在庫が確保され次第、血液センターで使用を始め、平成16年7月にはすべて白血球除去済みの製剤に切り替えることとしております。

成分採血由来の血漿製剤については平成17年度中、また、全血採血由来の製剤については、フィルターを組み込んだ採血バッグの操作性、全血採血装置、血液自動分離装置、ろ過スタンドなどの周辺機器の改良が終了する平成18年度中にすべて白血球除去済みの製剤に切り替えることとしております。

第4 平成15年10月22日付けで報告された輸血用血液製剤でG型肝炎ウイルスの感染が疑われる事例

HGV-NAT陽性献血者の献血・製剤情報

	採血日	HGV-NAT	製品	使用状況
	15.11.23	未検査	原料血漿	貯留保管中
	15.6.29	陽性	FFP-2	供給済
			RC-MAP-2	供給済
			原料血漿	貯留保管中
当該	15.4.24	陽性	PC-10	供給済
			原料血漿	貯留保管中
	14.10.30	陽性	FFP-2	供給済
			ir-RC-MAP-2	供給済
			原料血漿	供給済
	14.2.4	検査中	原料血漿	供給済
	14.1.18	検査中	原料血漿	供給済
	13.11.9	検査中	FFP-5	供給済
	13.7.6	検査中	FFP-2	供給済
			RC-MAP-2	減損廃棄
			原料血漿	供給済
	12.9.5	検査中	WB-2	減損廃棄
	12.2.5	検査中	WB-2	減損廃棄

問 診 票

(別紙3)

この問診票は、献血される方と輸血を受けられる方の安全を守るためにうかがうものです。
エイズ検査目的の献血は、血液を必要とする患者さんの安全のためにお断りしています。

質 問 事 項	質 問 事 項
1 今日体調はよろしいですか。	9 今までに輸血や臓器の移植を受けたことがありますか。
2 この3日間に注射や服薬をしましたか。 歯科治療(歯石除去を含む)を受けましたか。	10 B型やC型の肝炎ウイルス保有者(キャリア)と 言われたことがありますか。
3 今までに次の病気等にかかったことがありますか。 または現在かかっていますか。 マラリア、梅毒、肝臓病、乾せん、心臓病、脳卒中、 血液疾患、がん、けいれん、腎臓病、糖尿病、結核、 ぜんそく、アレルギー疾患、外傷・手術、その他()	11 次のいずれかに該当することがありますか。 ① CJD(クロイツフェルト・ヤコブ病)及び類縁疾 患と医師に言われたことがある。 ② 血縁者にCJD及び類縁疾患と診断された人がいる。 ③ 人由来成長ホルモンの注射を受けたことがある。 ④ 角膜移植を受けたことがある。 ⑤ 硬膜移植を伴う脳外科手術を受けたことがある。
4 次の病気や症状がありましたか。 3週間以内 - はしか、風疹、おたふくかぜ、帯状疱疹、水痘 1ヵ月以内 - 発熱を伴う食中毒様の激しい下痢 6ヵ月以内 - 伝染性単核球症	12 女性の方：現在妊娠中、または授乳中ですか。 この6ヵ月間に出産、流産をしましたか。
5 この1ヵ月間に家族にA型肝炎やリンゴ病(伝染性紅斑) を発症した人はいますか。	13 エイズの検査を受けるための献血ですか。
6 この1年間に予防接種を受けましたか。	14 この1年間に次のいずれかに該当することがありまし たか。(該当する項目を選ぶ必要はありません) ① 不特定の異性と性的接触をもった。 ② 男性の方：男性と性的接触をもった。 ③ エイズ検査(HIV検査)で陽性と言われた。 ④ 麻薬・覚せい剤を注射した。 ⑤ ①～④に該当する者と性的接触をもった。
7 海外に住んでいたことはありますか。 それはどこですか。(国、都市名) この1年間に海外旅行をしましたか。 それはどこですか。(国、都市名)	回答訂正番号 _____ 番
8 この1年間に次のいずれかに該当することがありましたか。 ① ピアス、またはいれずみ(刺青)をした。 ② 使用後の注射針を誤って自分に刺した。 ③ 肝炎ウイルス保有者(キャリア)と性的接触等親密 な接触があった。	私は以上の質問を理解し、正しく答えました。 献血した血液について、梅毒、HBV(B型肝炎ウイルス)、HCV(C型肝炎ウイ ルス)、HIV(エイズウイルス)、HTLV-I(ヒトTリンパ球向性ウイルス-I型) 等の検査が行われることを了解し、献血します。

- (注) 1. 献血される方は、「はい・いいえ」欄の該当する方に○印をご記入
願います。
2. それ以外の欄には、問診を行う者が、必要な事項を記入いたします。

署名

ヒトパルボウイルスB19の感染が疑われた症例に使用された輸血用血液の献血者の問診結果

報告年	症例	【質問1】 今日の体調はよろ しいですか。	【質問5】 この1ヵ月間に家族にA 型肝炎やリンゴ病(伝 染性紅斑)を発症した 人はいいますか。	採血の適否
平成14年	No. 1	はい	いいえ	適
	No. 2	はい	いいえ	適
	No. 3	はい	いいえ	適
平成15年	No. 4	はい	いいえ	適

2. 重要な基本的注意

- (1) 輸血は補充療法であって、根治的な療法ではない。
- * (2) 輸血は、放射線照射ガイドライン⁴⁾、血液製剤の使用指針¹⁾、輸血療法の実施に関する指針¹⁾及び血液製剤保管管理マニュアル⁵⁾に基づき、適切に行うこと。
- (3) 輸血には同種免疫等による副作用⁶⁾やウイルス等に感染する危険性⁷⁾があり得るので、他に代替する治療法等がなく、その有効性が危険性を上回ると判断される場合にのみ実施すること。
- ** (4) 輸血を行う場合は、その必要性とともに感染症・副作用等のリスクについて、患者又はその家族等に文書にてわかりやすく説明し、同意を得ること。
- (5) 本剤は、ABO血液型、Rho (D) 血液型及び赤血球不規則抗体の検査を行っているが、本剤と患者血液の不適合により溶血等の副作用があらわれることがある。したがって、患者のABO血液型、D (Rho) 抗原の確認及び交差適合試験を含む輸血前検査を適切に行うこと。
- (6) 本剤の使用により、エルシニア・エンテロコリチカ等の細菌によるエンドトキシンショック⁸⁾等があらわれることがあるので、観察を十分に行い、症状があらわれた場合には輸血を中止し、適切な処置を行うこと。
- ** (7) 現在までに本剤の使用により変異型クローイツフェルト・ヤコブ病 (vCJD) 等が伝播したとの報告はない。しかしながら、理論的なvCJD等の伝播のリスクを完全には排除できないので、使用の際には患者への説明を十分に行い、治療上の必要性を十分検討の上使用すること。
- ** (8) 血液バッグの可塑剤 (フタル酸ジ-2-エチルヘキシル: DEHP) が輸血用血液中に溶出し、保存に伴い増加することが確認されているが、溶出したDEHPにより直接的健康被害が発生したとの報告は現在までにない。

3. 副作用及び感染症

本剤の使用により、同種免疫による赤血球、白血球、血小板、血漿蛋白等に対する抗体が産生され、溶血、ショック、過敏症等の免疫学的副作用があらわれることがある。

- **また、本剤は、問診等の検診により健康状態を確認した国内の献血者から採血し、梅毒トレポネマ、B型肝炎ウイルス (HBV)、C型肝炎ウイルス (HCV)、ヒト免疫不全ウイルス (HIV-1及びHIV-2)、ヒトTリンパ球向性ウイルス1型 (HTLV-1) 及びヒトバルボウイルスB19についての血清学的検査、肝機能 (ALT (GPT)) 検査、HBV-DNA、HCV-RNA及びHIV-RNAについての核酸増幅検査に適合した献血血液を原料としている。しかし、このような措置によっても、これら及びその他血液を介するウイルス、細菌、原虫等に感染することがある。
- なお、以下の副作用及び感染症については、本剤もしくは他の輸血用血液の報告をもとに記載した。

1) 重大な副作用及び感染症

- (1) GVHD: 本剤の輸血1~2週間後に発熱、紅斑が出現し、引き続き下痢、肝機能障害、顆粒球減少症等を伴うGVHDによる死亡例がまれに (0.1%未満) 報告されている^{2,3)}。GVHD発症の危険性が高いと判断される患者に輸血する場合は、あらかじめ本剤に15~50Gyの放射線を照射すること⁴⁾。
- (2) ショック、アナフィラキシー (様) 反応: まれに (0.1%未満) ショック、チアノーゼ、皮膚潮紅、血管浮腫、喘鳴等のアナフィラキシー (様) 反応⁹⁾があらわれることがある。(初期症状は全身違和感、皮膚潮紅、腹痛、頻脈等で、アナフィラキシー (様) 反応の多くは輸血開始後10分以内に発現する。) これらの症状があらわれた場合には直ちに輸血を中止し、適切な処置を行うこと。また、輸血に際しては、ショック発現時に救急処置のとれる準備をあらかじめしておくこと。
- ** (3) 感染症: まれに (0.1%未満) B型、C型等の肝炎ウイルス¹⁰⁾に感染することがある。輸血後2週以降6ヵ月の間、肝炎ウイルスマーカーや肝機能の検査を行い、患者の経過観察を行うこと。
また、まれに (0.1%未満) HIV-1¹¹⁾、HIV-2¹²⁾に感染することがあるので、輸血後2ヵ月頃にこれらの抗体検査を行い、患者の経過観察を行うこと。
また、HTLV-1¹³⁾、CMV¹⁴⁾、エプスタイン・バーウイルス (EBV)¹⁵⁾、ヒトバルボウイルスB19¹⁶⁾、マラリア原虫¹⁷⁾等に感染することがあり、その他血液を介するウイルス、細菌、原虫等に感染する危険性も否定できない。観察を十分に行い、これらの症状があらわれた場合には適切な処置を行うこと。
- (4) 輸血関連急性肺障害 (TRALI: transfusion related acute lung injury)¹⁸⁾: まれに (0.1%未満) 急激な肺浮腫、重篤な血中酸素不足、頻脈、低血圧、チアノーゼ等があらわれることがある。これらの症状があらわれた場合には直ちに輸血を中止し、適切な処置を行うこと。
- (5) 輸血後紫斑病 (PTP: post transfusion purpura)¹⁹⁾: 輸血後約1週間経過して、まれに (0.1%未満) 急激な血小板減少、粘膜出血、血尿等があらわれることがあるので、患者の経過観察を行い、これらの症状があらわれた場合には適切な処置を行うこと。

2) その他の副作用^{20,21)}

- (1) 過敏症：蕁麻疹、発疹、発赤、痒痒感、悪心、嘔吐等があらわれることがある。これらの症状があらわれた場合には輸血を中止し、適切な処置を行うこと。
- * (2) 大量輸血：短時間に大量輸血した場合、まれに（0.1%未満）クエン酸による血中カルシウム濃度の低下による症状（手指のしびれ、嘔気など）、アシドーシス、凝固因子や血小板の減少・希釈に伴う出血傾向、高カリウム血症²²⁾による徐脈、不整脈、心不全、微小凝集塊による肺毛細管の閉塞に伴う肺機能不全²³⁾等の障害等があらわれることがある。輸血開始後は適宜患者の血清pH及び電解質等を測定するとともに、これらの症状があらわれた場合には輸血を中止し、適切な処置を行うこと。（微小凝集塊による副作用防止のためには、必要に応じて微小凝集塊除去用フィルターを使用すること。）
- * (3) 長期輸血：長期間にわたり頻回輸血した場合、まれに（0.1%未満）体内に鉄の沈着症を来し、鉄過剰症があらわれることがあるので、患者の経過観察を行い、症状があらわれた場合には適切な処置を行うこと。
- * (4) その他：発熱、悪寒、戦慄、頭痛・胸痛その他の痛み、呼吸困難、痙攣、血圧の上昇又は低下、黄疸、血尿、ヘモグロビン尿、血中カリウム濃度の上昇、血中ビリルビンの上昇、BUN・クレアチニンの上昇、白血球数の変動等があらわれることがある。これらの症状があらわれた場合には輸血を中止する等、適切な処置を行うこと。（白血球抗体の産生予防、又は白血球抗体による発熱、悪寒等の副作用防止のためには、必要に応じて白血球除去フィルターを使用すること。なお、白血球除去フィルター使用時に低血圧発作等が起こることがあるので、十分注意すること。）

4. 高齢者への輸血

一般に高齢者では生理機能が低下しているので、患者の状態を観察しながら慎重に輸血すること。

5. 妊婦、産婦、授乳婦等への輸血

妊婦へのヒトパルボウイルスB19、CMV等の感染によって、胎児への障害がまれに（0.1%未満）報告されているので、妊婦への輸血はその有効性が危険性を上回ると判断される場合にのみ実施すること。

6. 小児等への輸血

腎機能、心機能等の未発達な未熟児、新生児への輸血は患者の状態を観察しながら慎重に行うこと。

7. 過量輸血

本剤の過量輸血により心臓負荷等の循環障害、チアノーゼ、呼吸困難、肺水腫等があらわれることがある。これらの症状があらわれた場合には直ちに輸血を中止し、適切な処置を行うこと。

8. 適用上の注意

- (1) 外観異常：外観上異常を認めた場合は使用しないこと。
- (2) 他の薬剤との混注：本剤と他の薬剤との混注は避けること。
- (3) 本剤の加温：本剤は4～6℃で保存されているが、通常の輸血では加温の必要はない。ただし、急速大量輸血、新生児交換輸血等の場合は、体温の低下や血圧低下、不整脈等があらわれることがあるので本剤の加温が必要である²⁴⁾。その際、37℃を超える加温により蛋白質変性及び溶血を起こすことがあるので、温度管理を厳重に行うこと。
- (4) 用時開封等：細菌汚染を避けるため、本剤は使用するまで輸血口を開封しないこと。また、小児等への輸血で全量を使用しなかった場合、本剤の残りを再度保存して使用しないこと。
- (5) 物理的障害による溶血：細い針又は白血球除去フィルター等の使用時に、強い力で加圧・吸引すると溶血することがあるので注意すること。特に吸引時には注意すること。
- (6) 輸血用器具の目詰まり：輸血中は輸血用器具の目詰まりに注意すること。
- (7) 輸血中の患者の観察：輸血中は患者の様子を適宜観察すること。少なくとも輸血開始後約5分間は患者の観察を十分に行い、約15分経過した時点で再度観察すること。

【取扱い上の注意】

1. 過冷による溶血：本剤は、過冷により溶血することがあるので貯蔵時の温度管理を適正に行うこと。
- * 2. 患者との適合性の確認：事務的な過誤による血液型不適合輸血を防ぐために、本剤の受け渡し時、輸血準備時及び輸血実施時にそれぞれ、患者名、血液型、血液製剤製造番号、有効期限、交差適合試験の検査結果などについて、交差適合試験票の記載事項と輸血用血液バッグの本体及び添付伝票とを照合し、該当患者に適合しているものであることを複数の人で確認すること。

- ※3. 記録の保存：本剤は特定生物由来製品に該当することから、本剤を使用した場合はその名称（販売名）、製造番号、使用年月日、患者の氏名・住所等を記録し、20年間保存すること。

【包装】

本剤は、その一部を試験用血液として付属する。

人全血液CPD「日赤」：228mL 1袋

人全血液CPD「日赤」：456mL 1袋

【主要文献及び資料請求先】

※文献・資料

- 1) 血液製剤の使用指針及び輸血療法の実施に関する指針について（平成11年6月10日 医薬発第715号厚生省医薬安全局長通知）
- 2) 高橋孝喜,他：日赤研究班による輸血後GVHDの全国アンケート結果。日本輸血学会雑誌, 40：528-531, 1994.
- 3) 田所憲治,他：DNA多型解析からみた診断。日本輸血学会雑誌, 40：535-538, 1994.
- 4) 輸血によるGVHD予防のための血液に対する放射線照射ガイドラインⅣ（平成11年1月1日 日本輸血学会「輸血後GVHD対策小委員会」報告）
- 5) 血液製剤保管管理マニュアル（平成5年9月16日 厚生省薬務局委託事業（時）血液製剤調査機構血液製剤保管管理マニュアル作成小委員会）
- 6) 田所憲治：安全な輸血に関する最近の問題点—医薬情報部への報告から—。日本輸血学会雑誌, 41：478-481, 1995.
- 7) 菊地秀：輸血後感染症に関する研究。厚生省血液研究事業「平成9年度研究報告集」, pp75-79, 平成10年3月.
- 8) CDC：Red blood cell transfusions contaminated with *Yersinia enterocolitica*—United States, 1991-1996, and initiation of a national study to detect bacteria-associated transfusion reactions. MMWR, 46：553-555, 1997.
- 9) 谷洋,他：アナフィラキシー様ショック4例に関する一考察—透析器合併症を中心として—。麻酔, 40：1856-1861, 1991.
- 10) 片山達：肝炎ウイルス。治療学, 31：569-573, 1997.
- 11) CDC：The HIV/AIDS epidemic：the first 10 years. MMWR, 40：357-369, 1991.
- 12) Dufoort G, et al：No clinical signs 14 years after HIV-2 transmission via blood transfusion. Lancet, 11：510, 1988.
- 13) Inaba S, et al：Prevention of transmission of human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) through transfusion, by donor screening with antibody to the virus. Transfusion, 29：7-11, 1989.
- 14) Giles G, et al：The incidence and consequences of cytomegalovirus transmission via blood transfusion to low birth weight, premature infants in North East Scotland. Vox Sang, 62：200-207, 1992.
- 15) Breinig MK, et al：Epstein-Barr virus, cytomegalovirus, and other viral infections in children after liver transplantation. J Infect Dis, 156：273-279, 1987.
- 16) Zanella A, et al：Transfusion-transmitted human parvovirus B19 infection in a thalassemic patient. Transfusion, 35：769-772, 1995.
- 17) 狩野繁之,他：日本における輸血マラリア—血小板輸血により感染したと考えられる熱帯熱マラリア1症例を中心に—。日本熱帯医学会雑誌, 22：193-198, 1994.
- 18) Ramanathan RK, et al：Transfusion-related acute lung injury following random donor platelet transfusion. Vox Sang, 73：43-45, 1997.
- 19) Shulman NR, et al：Immunoreactions involving platelets. V. Post-transfusion purpura due to a complement-fixing antibody against a genetically controlled platelet antigen. A proposed mechanism for thrombocytopenia and its relevance in “autoimmunity”. J Clin Invest, 40：1597-1620, 1961.
- 20) Brittingham TE, et al：Febrile transfusion reactions caused by sensitivity to donor leukocytes and platelets. JAMA, 165：819-825, 1957.
- 21) Kevy SV, et al：Febrile, nonhemolytic transfusion reactions and the limited role of leukoagglutinins in their etiology. Transfusion, 2：7-16, 1962.
- 22) Linko K, et al：Hyperpotassemia during massive blood transfusions. Acta Anaesthesiol Scand, 28：220-221, 1984.
- 23) Moscley RV, et al：Death associated with multiple pulmonary emboli soon after battle injury. Ann Surg, 171：336-346, 1970.
- 24) AABB：Blood transfusion therapy：A physician's handbook 7th ed, p80, 2002.

文献・資料請求先

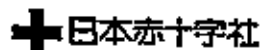
日本赤十字社中央血液センター 医薬情報部

〒105-0011 東京都港区芝公園二丁目4番1号 秀和芝パークビルB館14階

TEL 03-5733-8226

FAX 03-5733-8235

製造元



東京都港区芝大門一丁目1番3号

LETTERS

Vox Sanguinis

Receptor-mediated haemagglutination screening and reduction in the viral load of parvovirus B19 DNA in immunopurified Factor VIII concentrate (Cross Eight M®)

Y. Takeda¹, A. Wakisaka¹, K. Noguchi¹, T. Murozuka¹,
Y. Katsubayashi², S. Matsumoto¹, T. Tomono¹ & K. Nishioka²

¹The Japanese Red Cross Plasma Fractionation Center, Chitose, Hokkaido, Japan

²The Japanese Red Cross Society, Tokyo, Japan

Human parvovirus B19 (B19) causes erythema infectiosum in childhood. In patients with haemolytic anaemia, it occasionally causes a transient aplastic crisis. It can harm immunocompromised patients, and cause fetal death in pregnant women. Plasma collected from regular blood donors and pooled for fractionation usually contains B19 DNA. B19 infection via blood products prepared from such contaminated plasma is a serious problem. B19 is difficult to inactivate during the preparation of blood fractions as it is a non-enveloped virus and relatively resistant to heat and solvent/detergent. Although nanofiltration with a pore size of less than 15 nm removes B19 from some blood products, so far it has been difficult to work with such a small pore size for filtration of most plasma derivatives. To minimize the risk of transmission of B19, it is important to screen out blood containing B19 and to develop effective B19 elimination methods in manufacturing.

In 1998, the Japanese Red Cross (JRC) began nationwide screening of all donated blood units for B19 by using receptor-mediated haemagglutination (RHA). (This had already been implemented in 1997 on a trial basis.) As the P-antigen on human erythrocyte membranes is a receptor for B19 [1], the presence of B19 can be determined by agglutination of glutaraldehyde-treated human erythrocytes [2]. RHA is simple and easy to implement in conventional viral screening, with a sensitivity of $\approx 10^5$ copies/ml. All voluntarily donated blood units at each blood centre were screened by RHA using a method described previously [2], and RHA-positive units were excluded from the source plasma for fractionation.

We measured the amount of B19 DNA using the polymerase chain reaction (PCR). Briefly, DNA was extracted from 100 μ l of plasma by phenol-chloroform extraction after treatment with proteinase K and sodium dodecyl sulphate (SDS). DNA was amplified by nested PCR using primer, as described by Shade *et al.* [3]. Test samples were serially diluted 10-fold and the final dilution that was positive by PCR was used as the virus titre (PCR unit/ml). For example, 3 PCR units/ml means

that the PCR is positive when a 100- μ l sample at a 1 : 100 dilution is tested and negative when a 100- μ l sample at a 1 : 1000 dilution is tested. Because the 95% cut-off value of our PCR against the World Health Organization (WHO) International Standard (National Institute for Biological Standards and Control [NIBSC], UK code 99/800) is $10^{6.64}$ dilution, 1 ($\approx 10^6$) PCR unit/ml corresponds to 38 IU/ml.

RHA screening for B19, and subsequent exclusion of B19-positive units, markedly reduced the viral load in the source plasma. The difference in plasma viral load before and after implementation of RHA was statistically significant ($P < 0.001$). Figure 1 shows the amounts of B19 DNA in the batch of source plasma. Each batch of source plasma contained 1500 l of pooled plasma from $\approx 10\ 000$ non-remunerated voluntary donors. In 112 batches of source plasma in 1996, before RHA screening had been introduced, the mode B19 titre was 10^6 PCR units/ml, and 55% of batches were contaminated with more than 10^6 PCR units/ml of B19.

By contrast, after we implemented screening in 1998, the mode B19 titre decreased to 10^3 PCR units/ml. No detectable B19 was found in 18 batches (5%), and 49% of the batches had fewer than 10^3 PCR units/ml. In 1999, no detectable B19 was found in 16% of batches, and 69% had fewer than 10^2 PCR units/ml. Nonetheless, six batches (2.2%) still contained at least 10^5 PCR units/ml [4].

To reduce the B19 viral content of the final Factor VIII product (Cross Eight M®; JRC) from lot No. 2M181 (prepared June 19, 1997) to 2M209 (prepared March 16, 1998), we first introduced nanofiltration using Planova 35N (Asahikasei Corp., Tokyo, Japan). The B19 DNA content of the final Factor VIII product was reduced significantly by this procedure, but was still present in 26 out of 29 lots, as shown in Fig. 2. After implementation of RHA screening for all potential donors of source plasma, B19 DNA was found in two out of 12 lots prepared between March 1998 and June 1998. After that time, B19 DNA could not be detected in any of the final products of 51 lots of Factor VIII prepared from RHA-screened plasma. Even after dissolving the Factor VIII specimen in only 1 ml of water instead of in the prescribed 10 ml for PCR (i.e. a 10-fold concentrated solution), B19 DNA was not detected in any of 36 lots. We then analysed log-reduction rates by monoclonal immunoadsorption and passage through a cation-exchange column. The log-reduction rates were estimated as 4.9 and 1.9 respectively, giving a combined total of 6.8. Therefore, the residual viral load in RHA-screened source plasma could be effectively removed during preparation of Factor VIII. Nucleic acid amplification testing (NAT) of B19 might be considered for

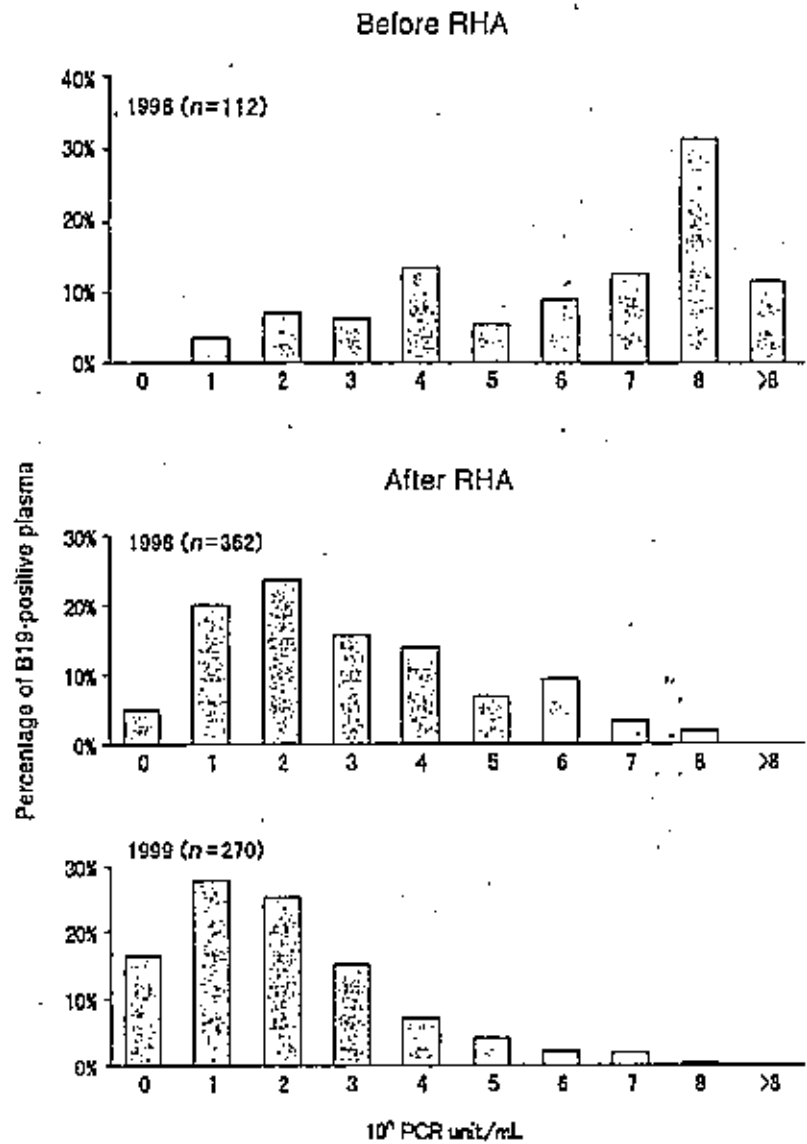


Fig. 1 Parvovirus B19 levels in the pooled source plasma for fractionation.

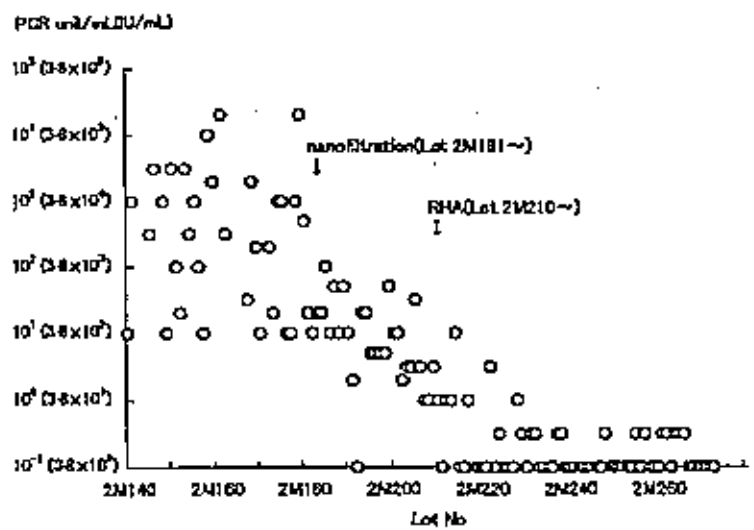


Fig. 2 Levels of parvovirus B19 DNA in Factor VIII concentrate (Cross Eight M®).

future reduction of the viral load in source plasma. However, RHA screening for B19 is still required to avoid cross-contamination or carry-over of the virus prior to NAT testing.

We conclude that RHA screening of individual blood donor specimens is a simple and effective procedure for eliminating high-titre B19 virus from source plasma for fractionation, as well as from blood components for transfusion.

Acknowledgements

We are grateful to Koji Sotoyama, Nariaki Kimura, Masako Shimobayashi and Motonaka Aoki for their skilful assistance.

References

- 1 Brown KE, Anderson SM, Young MS: Erythrocyte P antigen: receptor for B19 parvovirus. *Science* 1993; 262:114-117
- 2 Wakamatsu C, Takakura F, Kojima E, Kiriyama Y, Goto N,

Matsumoto K, Oyama M, Sato H, Okochi K, Maeda Y: Screening of blood donors for human parvovirus B19 and characterization of the results. *Vox Sang* 1999; 76:14-21

- 3 Shade RO, Blundell MC, Contmore SF, Fattersall P, Astell CR: Nucleotide sequence and genome organization of human parvovirus B19 isolated from the serum of a child during aplastic crisis. *J Virol* 1986; 58:921-936
- 4 Sakata H, Ihara H, Sato S, Kato T, Ikeda H, Sekiguchi S: Efficiency of donor screening for human parvovirus B19 by receptor-mediated hemagglutination assay method. *Vox Sang* 1999; 77:197-203

Tsugikazu Tomono, PhD

Vice Director

Japanese Red Cross Plasma Fractionation Center

1007-31 Izumisawa

Chitose 066-8610

Japan

E-mail: tomono@pfc.jrc.or.jp

原 著

献血血液の RHA 検査による第 VIII 因子製剤 (クロスエイト M™)

原料血漿からのパルボウイルス B19 除去効果

武田 芳於 阿部 生馬 青木 玄仲 外山 幸司
 木村 成明 下林 雅子 永野 泰子 勝林 祥郎
 室塚 剛志 脇坂 明美 伴野 丞計

日本赤十字社血漿分画センター

(平成13年9月27日受付)

(平成13年11月12日受理)

RHA SCREENING AND REDUCTION OF PARVOVIRUS B19 DNA FROM
FACTOR VIII CONCENTRATE (CROSS EIGHT M™)

Yoshio Takeda, Ikuma Abe, Motonaka Aoki, Koji Sotoyama, Nariaki Kimura, Masako Shimobayashi,
 Yasuko Nagano, Yoshiro Katsubayashi, Takashi Murozuka,
 Akemi Wakisaka and Tsugikazu Tomono
 Japanese Red Cross Plasma Fractionation Center

Since September 1997 the Japanese Red Cross has conducted a nationwide complete screening of human parvovirus B19 (B19) for all donated blood units by the receptor-mediated hemagglutination (RHA) method. RHA-positive units were excluded from source plasma for fractionation. The amounts of B19 DNA in pooled plasma and in factor VIII concentrates (Cross Eight M, plasma derived and monoclonal purified) were measured using a PCR method. All 112 batches of pooled plasma tested in 1996, before implementation of RHA screening, were B19 DNA-positive, with 83% of these contaminated with more than 3.8×10^4 IU/ml of B19 DNA. In contrast, after implementing RHA screening, no detectable levels of B19 DNA were observed in 5% (1998), 16% (1999), 21% (2000) and 21% (2001) of batches, and batches contaminated with more than 3.8×10^4 IU/ml of B19 DNA decreased to 18% (2001). B19 DNA content in the final products of factor VIII concentrate were reduced significantly when RHA-screened source plasma were used. Since September 1998, B19 DNA has not been detected in any of 78 lots of final products. Furthermore, no B19 DNA could be detected in any of 63 lots even in 1 : 10 concentrated solution. RHA screening for B19 has markedly reduced the viral load in source plasma for fractionation in Japan.

Key words : Human parvovirus B19, Donor screening, Receptor-mediated hemagglutination (RHA), Source plasma for fractionation, Plasma-derived factor VIII concentrate

はじめに

ヒトパルボウイルス B19 (以下 B19 と略す) は伝染性紅斑の原因ウイルスであり、健康人で免疫抗体を持たない場合、一般的には一過性の風邪様症状を呈するのみであるが、慢性溶血性貧血や免

疫不全患者では時に重篤な急性赤芽球癆を引き起こすことがある。また免疫抗体を有さない女性の妊娠時には流産に至ったり、その児には胎児水腫を起こすことがあり、子宮内死亡胎児の 15% が B19 DNA 陽性であったとの報告がある¹⁾。

B19 はエンベロープを持たない直径 18~26nm の小型ウイルスで、加熱(60°C30分)、酸(pH3)、クロロホルム、有機溶剤/界面活性剤処理に抵抗する²⁾。第 IX 因子製剤ではウイルス除去膜による B19 の効果的なウイルス除去がなされているが、多くの血漿分画製剤には孔径の小さな膜の導入が難しい。

製造工程中での B19 除去が困難であることから、原料血漿への B19 負荷を減らすことを目的に、赤十字血液センターでは 1997 年よりすべての献血血液について Receptor Mediated Hemagglutination (RHA) 検査法による B19 スクリーニング検査を実施している。我々は RHA 検査導入前後の第 VIII 因子製剤用原料血漿プールと第 VIII 因子製剤の B19 DNA 量を測定しその効果について評価したので報告する。

材料と方法

1. 第 VIII 因子製剤の原料血漿

血漿分画製剤の原料となる献血血液は、血液センターにおける問診、血清学的検査 (HBs 抗原、抗 HBc 抗体、抗 HIV-1/2 抗体、抗 HCV 抗体、抗 HTLV-1 抗体、B19、ALT、梅毒)、NAT センターにおけるプール検体 NAT (HBV、HIV-1、HCV、1999 年より) 陰性のものであり、更に原料血漿については 6 カ月間の貯留保管を経て安全が確認された血漿だけが製造に供される。

日本赤十字社血漿分画センターでは貯留保管を終えた血漿を、約 5,000 人から 10,000 人分混合してプール血漿とする。このプール血漿から第 VIII 因子製剤の中間原料であるクリオプレシビテートと、人血清アルブミンの原料となる上清 (脱クリオ血漿) を分離する。本報告では RHA 検査導入以前の献血血液で製造したプール血漿 112 バッチ (1996 年) および RHA 検査済み献血血液で製造した 1011 バッチ (1998 年 1 月から 2001 年 7 月に製造、献血血液約 700 万人分に相当) について B19 DNA を定量して比較した。

2. 第 VIII 因子製剤

日本赤十字社の第 VIII 因子製剤クロスエイト M について調べた。その製造工程概要は次のとおりである。すなわち 1 ロットのクロスエイト M

の製造にはプール血漿より得られたクリオプレシビテート数バッチ分 (約 8 万人分の血漿) が使用される。クリオプレシビテートの溶解液を有機溶剤/界面活性剤で処理し、イムノアフィニティクロマトグラフィーで第 VIII 因子を精製し、不純物を除去する。次に孔径 35nm のウイルス除去膜でろ過し、イオン交換クロマトグラフィーで更に精製する。原料血漿にウイルスが混入していればこれらの工程で不活化/除去される。その後充填、凍結乾燥して製品となる。

ウイルス除去膜は Lot 2M181 (1997 年 6 月製造) から製造工程に導入した。Lot 2M210 (1998 年 3 月製造) から RHA 検査済みの原料血漿を製造に使用した。

3. RHA 検査法

RHA 検査法は B19 が血液型 P 抗原をレセプターとする³⁾ことを利用した検査法で、グルタルアルデヒドで固定した P 抗原陽性のヒト O 型赤血球を、pH 5.0~5.8 で血清と反応させ、B19 があれば P 抗原と結合して血球凝集反応を呈する⁴⁾。日本赤十字社の血液センターではオリンパス社製全自動凝集反応検査装置 PK7200 を使用して 1997 年 9 月よりすべての献血血液について RHA スクリーニング検査を開始した。

4. NAT による B19 DNA の定量

検体 100 μ l を PK/SDS 処理後 Phenol/Chloroform で抽出し、その全量を Nested PCR 法で VP1 領域を増幅した⁵⁾。増幅産物を電気泳動後、Ethidium Bromide 染色し、バンドを認めたものを陽性とした。定量法は限界希釈法を用い、抽出物の再溶解液を 10 倍階段希釈して増幅し、陽性となる最大希釈倍率を求めた。NAT の検出感度は国際標準品 (WHO International Standard for Parvovirus B19 DNA NAT Assays, NIBSC Code 99/800, 5 \times 10³ International Unit/vial) を使用して測定し、95% 検出限界は 38IU/ml であった。

クロスエイト M は通例注射用水 10ml で再溶解するが、注射用水 1ml で再溶解することで簡便に 1:10 に濃縮した試料を調製して B19 DNA 定量を行った。

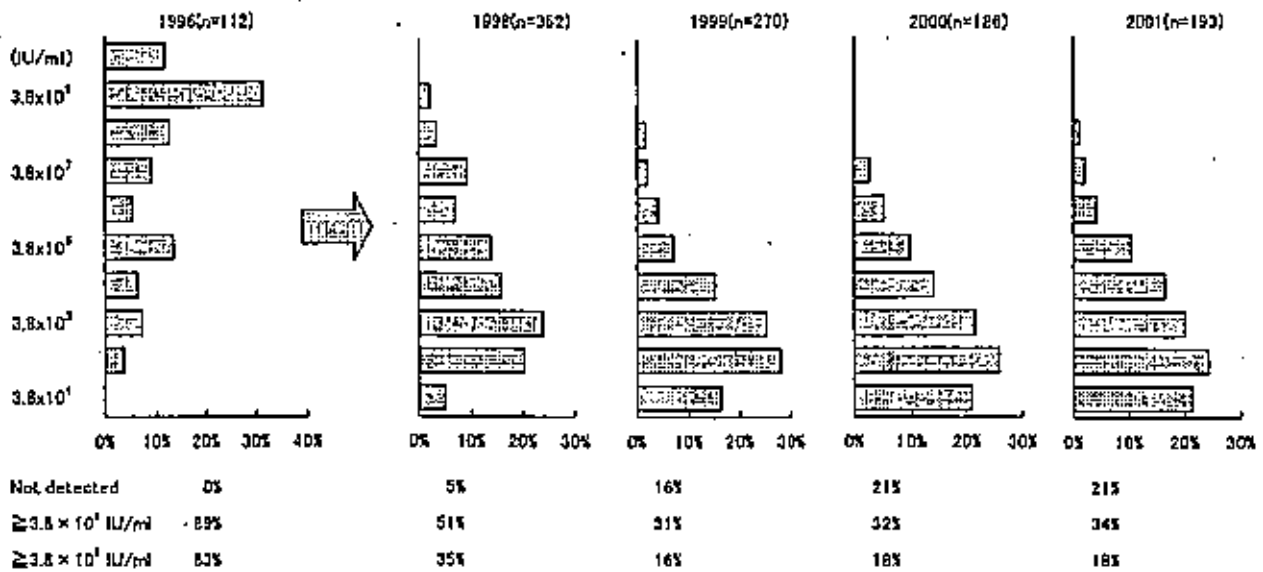


図1 Levels of human parvovirus B19 DNA in pooled plasma for fractionation. Data for 1996 show batches of plasma pools without RHA screening. While batches thereafter were screened.

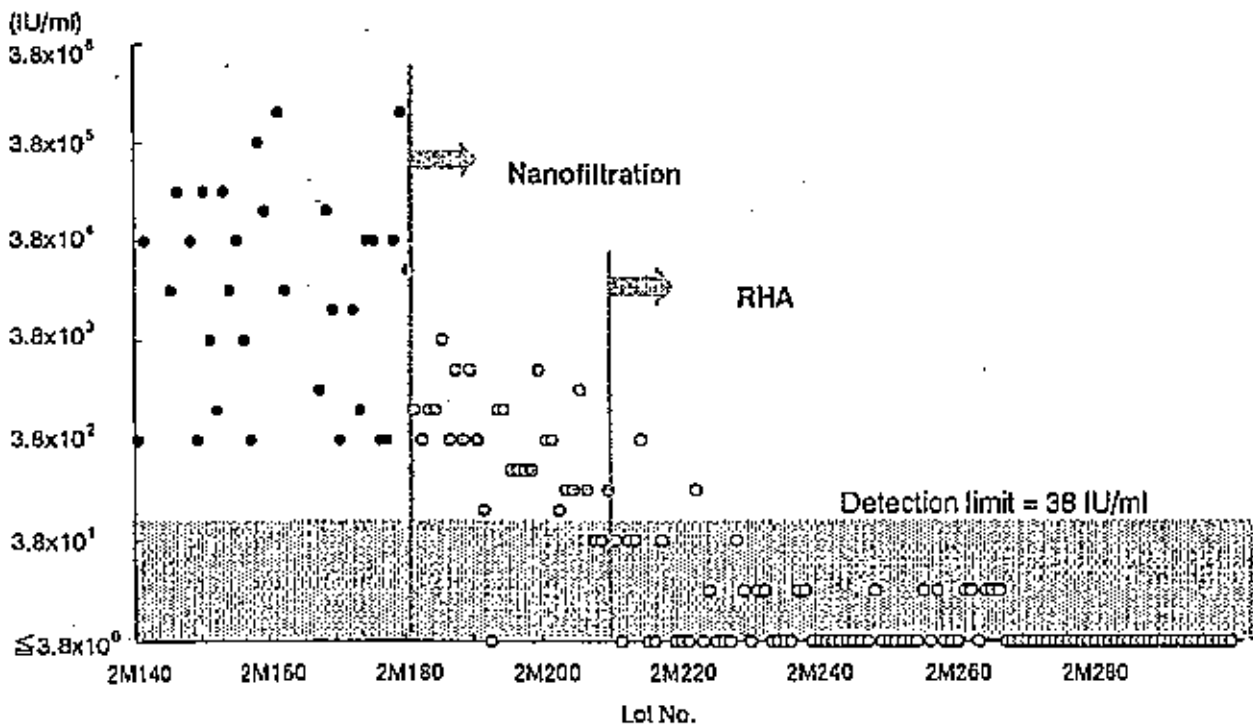


図2 Human parvovirus B19 DNA in plasma-derived monoclonal purified Factor VIII concentrate (Cross Eight M).

Circles in the bottom shaded area show that parvovirus B19 DNA levels in the final products below the PCR detection limit. Circles on the horizontal axis show that even parvovirus B19 DNA levels in the concentrated solution of final products (1 : 10) were below the PCR detection limit.

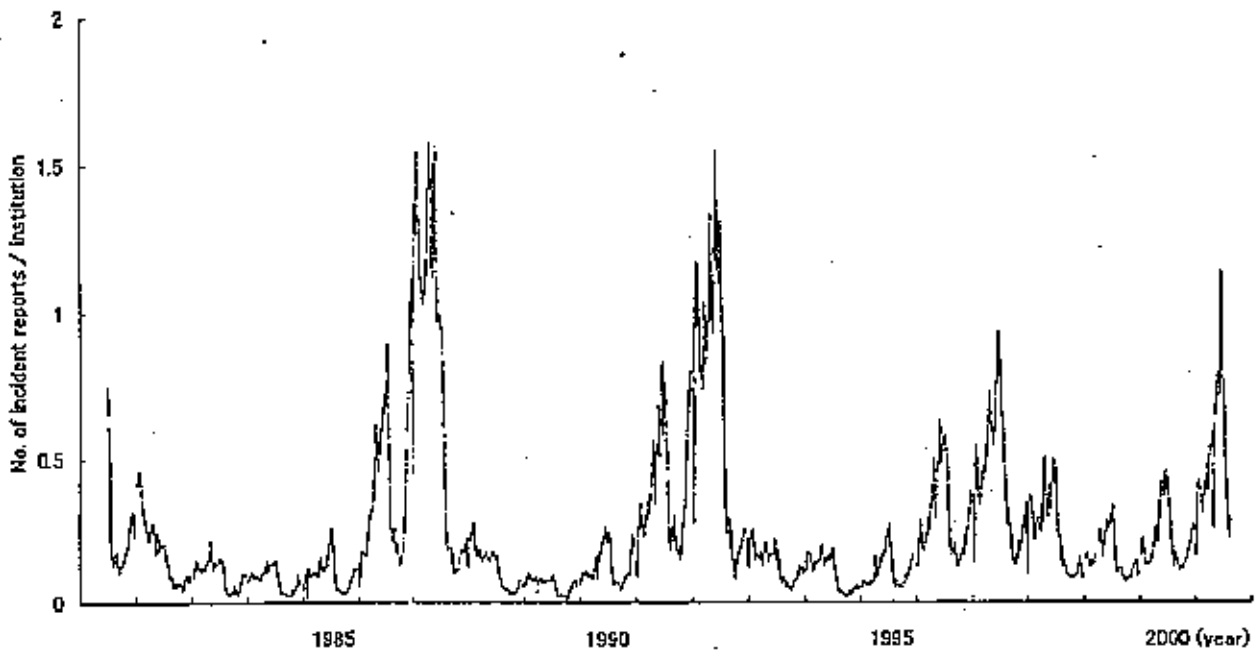


図3 Weekly incident rates of erythema infectiosum at various fixed observation sites. Infectious Diseases Weekly Report Japan (National Institute of Infectious Diseases, Infectious Disease Surveillance Center).

結 果

プール血漿の B19 DNA 量を測定した結果を図 1 に示した。RHA 検査以前の 1996 年に製造した プール血漿は、すべて B19 DNA 陽性で、 3.8×10^4 IU/ml 以上のものが全体の 83% を占めていた。RHA 検査導入後からプール血漿中の B19 DNA 量は減少し、1998 年には 5% であった検出限界以下のプール血漿が 2000 年には 21% に増加した。反対に 3.8×10^4 IU/ml 以上のプール血漿は 1998 年には 35% あったが、2000 年には 18% まで減少した。献血血液に RHA 検査を導入することで、原料血漿中の B19 DNA 量が減少した。

日本赤十字社の第 VIII 因子製剤、クロスエイト M の製品中の B19 DNA 定量結果を図 2 に示した。製造工程にウイルス除去膜を加えた Lot 2M 181 以降で、製品中の B19 DNA 量が減少している。それでも RHA 検査導入前は製品の 90% が B19 DNA 陽性であったが、RHA 検査済みの原料を用いた Lot 2M210 からは、製品中の B19 DNA 量は更に減少した。1998 年 9 月以降に製造した 78 ロットの製品で検出限界以下となり、そのうちの 63 ロットは検体を 1:10 に濃縮しても B19 DNA

を検出しなかった。

考 察

日本の献血者における B19 陽性率は推定 0.6~0.8% と報告されている¹⁰⁾。感染症サーベイランスの報告によれば 1987 年と 1992 年に伝染性紅斑の大流行があり、1997 年には弱い流行があった(図 3)。今回検査した 1998~2001 年は間歇期に相当し、必ずしも流行期に反映できない面もあるが、献血血液について RHA 検査で B19 抗原をスクリーニングすることによって、血漿分画製剤の原料血漿の B19 DNA を著しく減少させることができた。

一方 RHA 検査はその原理上 3~5 日間のウイルス血症期には有効だが、それに続いて B19 抗体の産生が始まると(抗原抗体複合体期) B19 の receptor である P 抗原と抗体が競合し、RHA 反応は著しく阻害される。即ちこの期間に献血された血液は RHA 検査では検出することができない。しかしながら今回測定されたプール血漿の B19 DNA 濃度を見ると、必ずしも抗原抗体複合期に献血された血液が RHA 検査をすり抜け、プールされたことが原因と言うことはできない。例えば

2001年を例に見ると、 10^4 IU/ml以上のB19 DNAを含むプール血漿が193バッチ中14バッチあった。ウイルス血症期におけるウイルス量は 10^{4-11} copies/mlであるのに対し、抗原抗体複合体期のウイルス量は 10^{2-4} copies/ml以下と遥かに少なく²⁰⁾、B19 DNA濃度の高いこの14バッチについては抗原抗体複合物期に献血された血液が多数プールされたとするよりは、少数(少なくとも14ユニット)のウイルス血症期のものが入ったためと思われる。すなわちウイルス血症期といえどもRHA検査で陰性とされる場合があり、精度管理と共にこの検査漏れを無くすことがRHA検査の今後の課題である。

現在各国でB19スクリーニングに対する取り組みが行われている。アメリカではFDAから血漿分画製剤に使われるプール血漿のB19 DNA量を 10^4 geq/ml以下にするよう見解が示された(CBER (FDA) : 第64回血液製剤諮問委員会 (9/16/99) 議事録, p144-222)。また、欧米の血漿分画製剤企業が集まりであるPPTA (Plasma Protein Therapeutics Association) は自主的に、2002年6月以降にプール血漿のB19 DNA量を 10^3 IU/ml以下にする目標を立てている (Announce, "PPTA Voluntary Standard Parvovirus B19", March 2001. www.pptaglobal.org/safety/index.htm)

このような世界的な血漿分画製剤原料血液のB19低減化の流れにあつては、先述したRHA検査の課題が解決できないときには、日本もNATによるB19スクリーニングを考慮する必要がある。NATスクリーニングに関しては、すでに日本赤十字社が世界に先駆けて、血漿分画製剤用原料を含むすべての献血血液に対してHBV, HIV-1, HCVについて実施し、ノウハウを蓄積している。NATスクリーニングを血清学的検査と組み合わせることで、無用な検査や検体汚染を防ぎ、効率性を高めていることもその一つである。B19の場

合その陽性率の高さと、ウイルス血症におけるウイルス量の多さ²⁰⁾がNATスクリーニングの障害になるが、RHA検査はその事前スクリーニングとして有効である。

本報告は日本赤十字社血液事業部、日本赤十字社中央血液センター、北海道、大阪府、福岡県各赤十字血液センターのご指導のもとに実施した検査に基づくものです。本論文の要旨は第49回日本輸血学会総会において報告しました。

文 献

- 1) Tolfvenstam T., et al : Frequency of human Parvovirus B19 infection in Intrauterine fetal death. *Lancet*, 357 : 1494-1497, 2001.
- 2) 松永泰子 : ヒトパルボウイルス B19 感染と血液疾患. *Immunohaematology*, 11 (1) : 9-13, 1989.
- 3) Brown, K.E., Anderson, S.M. and Young, N.S. : Erythrocyte P antigen : Cellular receptor for B19 parvovirus. *Science*, 262 : 114-117, 1993.
- 4) Sato H., et al : Screening of blood donors for human Parvovirus B19. *Lancet*, 345 : 1237-1238, 1995.
- 5) 佐藤博行 : 最近話題の輸血後感染症、ヒトパルボウイルス B19 とその感染症について. *日本輸血学会誌*, 42 (3) : 74-82, 1996.
- 6) Shade, R.O., Blundell, M.C., Contnmore, S.F., et al : Nucleotide sequence and genome organization of human parvovirus B19 isolated from the serum of a child during aplastic crisis. *J. Virol.*, 58 (3) : 921-936, 1986.
- 7) Yota, Y., Kudoh, T., Haseyama, K., et al : Incidence of human parvovirus B19 DNA detection in blood donors. *Br. J. Haematol.*, 91 : 1017-1018, 1995.
- 8) 佐藤進一郎, 他 : Receptor-mediated hemagglutination (RHA) によるヒトパルボウイルス B19 抗原スクリーニングの評価検討. *日本輸血学会誌*, 42 (5) : 231-232, 1996.
- 9) 佐藤博行 : 読者への手紙に対するコメント. *日本輸血学会誌*, 42 (6) : 299-300, 1996.
- 10) 布上 薫 : ヒトパルボウイルス感染の臨床と疫学. *ウイルス*, 37 (2) : 159-168, 1987.