

90100	2009/3/19	81013	異型クロイツフェルト・ヤコブ病	Cell 2008; 134: 757-768	マウスPrPScと混合させることによって折り畳み異常が起こったハムスターPrPCは、野生型ハムスターに対して感染性を起こす新規なプリオンを生成した。同様の結果は、反対方向でも得られた。PMCA増幅を繰り返すとin vitro産生プリオンの順応が起こる。このプロセスは、in vivoでの連続継代に観察される株の安定化を暗示させる。種の壁と株の生成がPrP折り畳み異常の伝播によって決定されることが示唆される。	
90100	2009/3/19	81013	異型クロイツフェルト・ヤコブ病	Emerg Infect Dis 2008; 14: 1406-1412	263Kスクレイビーの臨床症状を呈するハムスター22匹の尿にTSE感染性があることが示された。これらの動物の腎臓と膀胱のホモジネートは20000倍以上希釈してもTSE感染性があった。組織学的、免疫組織化学的分析では、腎臓における疾患関連PrPの散発的な沈着以外、炎症や病変は見られなかった。尿中のTSE感染性が、自然のTSEの水平感染に何らかの役割を果たす可能性がある。	
90118	2009/4/15	90068	異型クロイツフェルト・ヤコブ病	HPA/News 2009年2月17日	vCJDと関連のない疾患で死亡し、生前にvCJD又は他の神経学的症状を示していなかった男性血友病患者の剖検時に、異常プリオンタンパクが確認された。この男性は、献血後にvCJDを発症したドナー血漿を含む原料から製造された第 因子製剤を使用していた。	27
90144	2009/4/30	90183	異型クロイツフェルト・ヤコブ病	HPAweb February 17, 2009	1996年に血漿を提供し、その6ヵ月後にvCJDを呈したドナーの血漿由来の第8因子製剤を使用した血友病患者について、この度、検死によりvCJD感染が報告された。血漿分画製剤によるTSE伝播の可能性を示唆する初の報告である。	28
90138	2009/4/27	90149	異型クロイツフェルト・ヤコブ病	J. Hosp. Infect. 2009; 72: 65-70	新規のプリオン不活化法として、Bacillus lentusサブチリン遺伝子を変異させて得られたアルカリプロテアーゼ:MC3の報告。MC3はプロテイナーゼKよりも高い分解能を示し、MC3消化の感染性マウス脳ホモジネート(IMBH)投与マウスの生存率は、非分解IMBH投与マウスと比較して極めて高かった。	29
90132	2009/4/24	90141	異型クロイツフェルト・ヤコブ病	Lancet Neurology 2009; 8: 57-66	BSEプリオンに対するヒトの感受性についてSNPを解析した。PRNP遺伝子座はプリオン病のいくつかのマーカートと全てのカテゴリーを通じてリスクに強く関連していた。疾病リスクへの主な寄与はPRNP多型コドン129であったが、別の近傍のSNPによってvCJDのリスク増大がもたらされた。	30
90136	2009/4/27	90147	異型クロイツフェルト・ヤコブ病	News-Medical.Net 2008 Dec 22	Amorfix Life Sciences社(カナダ)が開発した血漿中におけるvCJDプリオンタンパク質の検査法。脳ホモジネートを1/1,000,000まで希釈した検体を検出することが可能である。	31
90116	2009/3/30	81068	異型クロイツフェルト・ヤコブ病	PLoS ONE 2008; 3: e2878	野生型マウスおよびヒトPrPを発現しているトランスジェニックマウスに、輸血関連vCJD感染第1号症例由来の脳材料を接種し、輸血によるヒト-ヒト間の2次感染後のvCJD病原体の性質について調べた。その結果、潜伏期間、臨床症状、神経病理学的特徴およびPrP型について、vCJD(輸血)接種群はvCJD(BSE)接種群と類似していた。vCJD病原体は、ヒトにおける2次感染により、有意な変化が起こらないことが明らかとなった。	
90100	2009/3/19	81013	異型クロイツフェルト・ヤコブ病	PLoS ONE 2008; 3: e3017	非定型BSE(BASE)に感染した無症候のイタリアの乳牛の脳ホモジネートをカニクイザルに脳内接種した。BASE接種サルは生存期間が短く、古典的BSEまたはvCJD接種サルとは異なる臨床的展開、組織変化、PrPresパターンを示した。感染牛と同じ国の孤発性CJD患者でPrPが異常なウエスタンプロットを示す4例のうち3例のPrPresに同じ生化学的特徴を認めた。BASEの霊長類における高い病原性および見かけ上孤発性CJDである症例との関連の可能性が示唆された。	

90130	2009/4/24	90139	異型クロイツフェルト・ヤコブ病	Transfusion 2008; 48: Supplement 33A	米国での古典的CJDを発症した供血者計35名に由来する血液成分の受血者430名の遡及調査の結果、弧発性CJDが輸血で伝播する証拠は無く、リスクはvCJDと比較して有意に低かった。	32
90148	2009/5/22	90189	異型クロイツフェルト・ヤコブ病	Vox Sanguinis 2009; 96: 270	1995年から3回/週でIVIG治療を受けていた61歳女性は、1997年1月～1998年2月の期間に、後にvCJDを発症した供血者由来の製剤を使用していた。この女性の死亡後、剖検により脾臓、リンパ節、脳内のプリオン蛋白を検査したが、検出されなかった。	33
90145	2009/5/1	90184	感染	BMJ 2008; 337: a2622	欧州における2006年の感染症の発生報告はクラミジアが最も多く、以下、ランブル鞭毛虫症、カンピロバクター症、サルモネラ症、結核、流行性耳下腺炎、淋病、C型肝炎、侵襲性肺炎球菌疾患、HIVの順であった。	34
90145	2009/5/1	90184	感染	http://www.fda.gov/cber/blood/fatal07.pdf	2007年度のCBERに報告された供血後及び輸血後の死亡例概要。受血者76件、供血者17件の死亡報告。受血者死亡の内訳は、52件が輸血関連もの、11件が輸血関連性否定できないもの、13件が輸血と関連しないものであった。	35
90145	2009/5/1	90184	寄生虫感染	AABB Annual Meeting and TXPO 2008-2	輸血を介したバベシア症死亡例の報告。1998年の1例以降しばらく無かったが、2006年1～10月にはFDAに5例が報告された。生物学的製品逸脱報告サマリーでは、過去10年間にバベシア症関連報告が68件あり、近年この報告が増加傾向にあることは、バベシア症伝播に係る輸血関連リスクが増加していることを示している。	36
90100	2009/3/19	81013	狂犬病	ProMED-mail20080826.2660	1990年から2007年の中国における狂犬病発生傾向を調べた研究によると、最近8年間でヒト狂犬病症例数が急激に増加したことが明らかとなった。ヒト狂犬病は1990年から1996年の間は全国的な狂犬病ワクチン接種プログラムにより抑制され、わずか159症例が報告されただけであるが、2006年は3279症例と激増した。	
90145	2009/5/1	90184	細菌感染	Am J Infect Control 2008; 36: 602	減量法として両耳の上部耳介軟骨に置き鍼治療(Stapling)を受けた16歳の女性が、2週間後に左耳の鍼周囲の紅斑および圧痛を呈した。膿瘍ドレナージ検体の培養および感受性試験の結果、両耳で著しい緑膿菌の生育が認められた。21日間の経口シプロフロキサシン投与により回復した。外耳軟骨は、血流に乏しく特に感染しやすい。耳鍼が危険な緑膿菌感染を起こす可能性があることを医師は認識するべきである。	
90097	2009/3/26	80995	細菌感染	CDC/MMWR 2008; 57: 1145-1148	米国ミネソタ州の68歳男性が、2007年10月12～21日に手術後の輸血を受け、敗血症および多臓器不全をきたした後、10月31日に発熱を伴う急性血小板減少症を発現し、11月3～5日の血液検体からPCR及び抗体検査でアナプラズマ症感染が確認された。血液ドナーの1人にA. phagocytophilum陽性がPCR及びIFA検査で確認され、血液ドナーに感染源が確認された初の事例となった。	
90145	2009/5/1	90184	細菌感染	Transfusion 2008; 48: 2348-2355	全血血小板の細菌汚染リスクを低減させるためには、初流血除去及び細菌培養によるスクリーニングが有効な方法であることを示す報告。	37
90132	2009/4/24	90141	真菌感染	CDC/MMWR 2009; 58: 105-109	カリフォルニア州におけるコクシジオイデス症の報告数及び入院数は2000～2006年の間毎年増加しており、2007年に減少した。アリゾナ州は毎年米国のコクシジオイデス症全体の約60%を占めており、1999年の1,812例(37/10万人)から2006年の5,535例(91/10万人)と実質的な増加を示した。米国全体では、1996年の1,697例から2006年の8,917例に増加した。	38

医薬品 研究報告 調査報告書

識別番号・報告回数			報告日	第一報入手日 2008. 12. 17	新医薬品等の区分 該当なし	総合機構処理欄
一般的名称	人血清アルブミン		研究報告の公表状況	Shimasaki N, Kiyohara T, Totsuka A, Nojima K, Okada Y, Yamaguchi K, Kajioka J, Wakita T, Yoneyama T, Vox Sang. 2009 Jan ; 96(1):14-19	公表国 日本	
販売名(企業名)	赤十字アルブミン20(日本赤十字社) 赤十字アルブミン25(日本赤十字社)					
研究報告の概要	<p>○加熱および高静水圧によるA型肝炎ウイルスの不活化:実験株間の差異 背景および目的:感染した血液製剤によるA型肝炎ウイルス(HAV)の伝播が報告されている。HAV細胞馴化株(Cell-adapted HAV strains)は、通常、血液製剤製造時のウイルス不活化の確認に用いられるが、これらは不活化処理に対する感度が異なると考えられる。ウイルス・バリデーションに適切なHAV細胞馴化株を選ぶため、2種類の物理的不活化処理法下(加熱および高静水圧)で、4株間の不活化効率を比較した。 材料および方法:本試験で使用したHAV細胞馴化株は、KRM238、KRM003(subgenotype IIIB)、KRM031(IA)、TKM005(1B)であった。60℃(～10時間)の加熱、または高静水圧下(～420 MPa)にて、これらの株に処理を行った。immunofocus-staining法でHAV感染力の低下を測定した。 結果:加熱(60℃10時間)処理はHAV感染性を3～5 log₁₀の範囲で低下させたが、KRM238およびTKM005は他2株と比べ不活性化が困難であった。高静水圧処理(420 MPa)も感染性を3～5 log₁₀の範囲で低下させ、KRM031は他の株と比べて不活性化が容易であった。 結論:加熱処理および高静水圧処理によりHAV細胞馴化株間の不活化効果の差が明らかとなり、処理によって各株の反応は異なった。KRM238は不活化が困難で、他の細胞株よりも細胞培養での複製が良好であるため、血液製剤のウイルス汚染に対する安全性を評価するのにもっとも適した候補と考えられる。</p>					使用上の注意記載状況・ その他参考事項等
						赤十字アルブミン20 赤十字アルブミン25 血液を原料とすることに由来する感染症伝播等
報告企業の意見			今後の対応			
加熱および高静水圧の物理的不活化処理法で4株のA型肝炎ウイルスの不活化を行ったところ、それぞれの処理はHAV感染性を3～5 log ₁₀ の範囲で低下させた。また、血液製剤のウイルス汚染に対する安全性を評価するのにもっとも適した株は耐熱性のKRM238であったとの報告である。 これまで、本剤によるHAV感染の報告はない。さらに最終製品についてHAV-NAT陰性であることを確認していることから本剤の安全性は確保されていると考える。			本剤の安全性は確保されていると考えるが、本剤の重要なウイルス除去・不活化工程である液状加熱に抵抗性のある遺伝子型の存在が示唆されたので、今後もウイルスの検出や不活化する方策について情報の収集に努める。なお、日本赤十字社は、輸血感染症対策として、問診で肝炎の既往があった場合、A型肝炎については治癒後6ヶ月間、家族に発症した人がいる場合は1ヶ月間献血不適としている。			



Inactivation of hepatitis A virus by heat and high hydrostatic pressure: variation among laboratory strains

N. Shimasaki,^{1,2} T. Kiyohara,¹ A. Totsuka,¹ K. Nojima,³ Y. Okada,³ K. Yamaguchi,³ J. Kajioka,⁴ T. Wakita¹ & T. Yoneyama¹

¹Department of Virology II, ²Division of Biosafety Control and Research, ³Department of Safety Research on Blood and Biological Products, National Institute of Infectious Diseases, Gakuen, Musashimurayama, Tokyo, Japan

⁴Kitasato Research Center for Environmental Sciences, Kitasato, Sagami-hara, Japan

Vox Sanguinis

Background and Objectives Hepatitis A virus (HAV) transmission via contaminated blood products has been reported. Cell-adapted HAV strains are generally used to confirm virus inactivation in manufacturing blood products, but the strains may differ in their sensitivity to inactivation treatment. To select an appropriate cell-adapted HAV strain for virus validation, we compared the inactivation efficiency among four strains under two different physical inactivation treatments: heat and high hydrostatic pressure.

Materials and Methods The cell-adapted HAV strains used here were KRM238, KRM003 (subgenotype IIIB), KRM031 (IA), and TKM005 (IB). The strains were treated at 60°C for up to 10 h or under high hydrostatic pressure (up to 420 MPa). The reduction in HAV infectivity was measured by an immunofocus-staining method.

Results The heat treatment at 60°C for 10 h reduced HAV infectivity in the range of 3 to 5 log₁₀ among the strains; KRM238 and TKM005 were harder to inactivate than the other two. The high hydrostatic pressure treatment at 420 MPa also reduced infectivity in the range of 3 to 5 log₁₀ among the strains, and KRM031 was easier to inactivate than the other strains.

Conclusion Heat treatment and high hydrostatic pressure treatment revealed differences in inactivation efficiencies among cell-adapted HAV strains, and each strain reacted differently depending on the treatment. KRM238 may be the best candidate for virus validation to ensure the safety of blood products against viral contamination, as it is harder to inactivate and it replicates better in cell culture than the other strains.

Key words: heat inactivation, hepatitis A virus, high hydrostatic pressure inactivation, variation among strains, virus validation.

Received: 2 May 2008,
revised 19 September 2008,
accepted 20 September 2008,
published online 2 November 2008

Introduction

Hepatitis A virus (HAV), which is responsible for acute viral hepatitis, is transmitted primarily by the fecal-oral route,

either through the ingestion of contaminated food or water or through person-to-person contact [1,2]. On the other hand, parenteral HAV transmission has also been reported via contaminated blood [3] or blood products [4,5]. Moreover, *in vivo* HAV infection via blood reportedly has a much higher HAV infection efficiency than does oral HAV infection [6]. In developed countries such as Japan, HAV infections have become less common, owing to improved hygiene resulting from the maintenance of water and sewage facilities. Infections in early childhood are relatively rare, and thus the majority

Correspondence: Noriko Shimasaki, Division of Biosafety Control and Research, National Institute of Infectious Diseases, 4-7-1, Gakuen, Musashimurayama, Tokyo 208-0011, Japan
E-mail: shima@nih.go.jp

Table 1 Characteristics of HAV strains used

Strain	Subgenotype	Source	Year of recovery	Number of passages on African green monkey kidney cells	Titre of stock virus (FFU/ml)	Reference	Accession no.
KRM238	IIIB	Outbreak	1977	59	1.5×10^8	[21]	AB300205
KRM003	IIIB	Sporadic	1979	72	1.5×10^8	[15,18]	AB425339
KRM031	IA	Outbreak	1977	47	1.5×10^8	[15]	AB300206
TKM005	IB	Travel-associated	1981	48	0.5×10^8	[15]	AB300207

of adults remain susceptible to infection, because they lack the immunity to HAV [7]. As this could potentially facilitate massive outbreaks of hepatitis A in the general population, treatment to inactivate HAV in blood and blood products should be improved.

Previous results have demonstrated that, because HAV is a non-enveloped virus, it is quite resistant against chemical inactivation approaches, such as solvent/detergent treatments used in the preparation of blood products [8]. HAV can be inactivated however by pasteurization [9], γ -irradiation [10], and short wavelength ultraviolet light irradiation [11].

Because environmental HAV strains that have just isolated from human generally grow poorly in cell culture, cell-adapted HAV strains are generally used to test virus inactivation. As extensive genetic variation is found among cell-adapted strains [12], the strains may differ in their sensitivity to inactivation treatments. But no studies have considered the variation among cell-adapted HAV strains in testing the efficiency of inactivation treatments.

HAV strains recovered from different parts of the world have been classified into six genotypes (I–VI). Genotypes I, II and III are found in humans, and each of them is further divided into subgenotypes A and B. Most human HAV strains belong to genotypes I and III [13–15]. Subgenotype IA appears to be the predominant virus of hepatitis A cases worldwide, whereas subgenotypes IB and IIIA have been found in Scandinavia and in the Mediterranean region [16,17]. Subgenotype IIIB is unique to Japan [15,18].

To select an appropriate HAV laboratory strain for use in virus validation, we compared the rates of inactivation efficiency among cell-adapted HAV strains by using two different physical inactivation treatments – heat treatment at 60°C and high hydrostatic pressure treatment – among four cell-adapted HAV strains belonging to three subgenotypes. Heat treatment was used as a conventional inactivation treatment for blood products. High hydrostatic pressure treatment is a promising new virus-inactivating technique that is applicable to human immunodeficiency virus in blood products [19] and has been applied to HAV in food [20]. It is expected to be useful for inactivating a broad range of micro-organisms in blood products under conditions without applying high temperatures.

Materials and methods

Virus strains and propagation

Four laboratory HAV strains (KRM238, KRM003, KRM031, and TKM005) were isolated from patients with hepatitis A in Japan [15,21], and these strains were adapted by numerous passages on African green monkey kidney cells. Table 1 shows each strain's subgenotype, passage history, and stock virus titre. All four strains were propagated on an established African green monkey kidney cell line, GL37 [18].

GL37 cells were grown in Eagle's minimum essential medium supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS) and 50 μ g/ml gentamycin. To prepare the virus stocks, GL37 cells were infected at a multiplicity of infection of 0.1 focus forming units (FFU) per cell in Eagle's minimum essential medium containing 2% FBS, and were incubated for 2 weeks at 36.5°C in the presence of 5% CO₂. The infected cells were harvested by replacing the medium with phosphate-buffered saline containing 2% FBS. Virus stocks were obtained as supernatants of centrifugation at 2380 *g* for 5 min after release of the viruses by three freeze-thaw cycles and sonication of infected cells. The virus stocks were then stored at –80°C until use.

Infectivity assay

The infectious titre of each HAV strain was measured by the immunofocus-staining method described previously [21]. Briefly, a 100 μ l portion of the virus dilution was inoculated into duplicate GL37 cells cultures in six-well plates at 36.5°C in the presence of 5% CO₂. After 60 min adsorption, 5 ml of the medium containing 0.6% agarose and 2% FBS was overlaid on each well. The plates were incubated at 36.5°C in the presence of 5% CO₂ for 9 days. The cells were fixed with 80% methanol containing 0.03% H₂O₂ after removal of the agarose medium. HAV foci were revealed by anti-HAV rabbit serum and horseradish peroxidase-conjugated anti-rabbit immunoglobulin G (IgG) (MBL, Nagoya, Japan) followed by colour development with DAB substrate solution (0.5 mg/ml diaminobenzidine, 0.03% (NH₄)₂Ni(SO₄)₂, 0.03% CoCl₂, and 0.03% H₂O₂ in phosphate-buffered saline).