

LETTER TO THE EDITOR

Transfusions of red blood cells from an occult hepatitis B virus carrier without apparent signs of transfusion-transmitted hepatitis B infection

Dear Sir

To minimize the risk of transfusion-transmitted hepatitis B virus (HBV) infections, the Japanese Red Cross (JRC) Blood Centers have adopted a multistep screening system to identify donors at risk of HBV infection. First, donors are examined for the hepatitis B surface antigen (HBsAg) by performing reverse passive haemagglutination tests with a sensitivity of 3 ng mL^{-1} . HBsAg-negative donations are screened for antibodies against HBsAg and the hepatitis B core antigen (anti-HBs and anti-HBc, respectively) by particle haemagglutination and haemagglutination inhibition (HI) tests, respectively. Donations with a high anti-HBs titre ($\geq 2^4$ dilution equivalent to 200 mIU mL^{-1}) or a low or zero anti-HBc titre ($\leq 2^4$ dilution) are defined as 'seronegative'. The cut off value for anti-HBc tests is relatively high compared to that of enzyme-linked immunoassays (EIAs) because HBV DNA was not detected by an in-house polymerase chain reaction (PCR) in donors who tested negative for HBsAg and positive for anti-HBc at an HI titre less than 2^5 (Iizuka *et al.*, 1992). Since the introduction of nucleic acid amplification test (NAT) technology, all seronegative donations are pooled (initially, at a pool size of 500 and a current pool size of 20, i.e. 20-NAT) and subjected to NAT (Ampli-NAT, Roche, IN, USA). If the 20-NAT tests positive, the pooled donations are further subjected to individual NAT (ID-NAT) to identify the blood donation that contains the viral genome. The 95% confidence interval of the detection range for HBV in ID-NAT is 22-60 copies of HBV per millilitre (Meng *et al.*, 2001). Donors who did not fall within the algorithm would be either categorized in the window period of 20 NAT or assigned an occult HBV status with a low viral load (reviewed by Raimondo *et al.*, 2007).

In November 2006, the Osaka Red Cross Blood Center, Japan, identified a repeat donor, namely, a 69-year-old female, whose donation was found to be positive for HBV DNA when tested by the latest 20-NAT. According to the guidelines for the safety of transfusion in the JRC Blood Centers, the serological status of the donation was re-evaluated. The donated blood was found to be negative for HBsAg, anti-HBs and anti-HBc by routine testing methods and positive for only anti-HBc when tested using EIA (AxSYM; Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA), indicating that the donor was an occult HBV carrier with a low anti-HBc titre. We retrieved frozen aliquots of previous donations by this donor and found that sera donated on and after 1 October 1999 tested positive for HBV DNA when tested by ID-NAT. The amount of HBV DNA in these donations was less than 100 copies per millilitre, except for two donations (Table 1). From the 13 donations made by this donor in the abovementioned period, 11 components were transfused into recipients (recipient number 1-11 in Table 1). We collected the HBV test records of some of the recipients from the medical institutions where each recipient had been hospitalized. Recipients 3, 6, 7 and 9 had succumbed to their primary disease, and no records were available for recipients 10 and 11. Of the remaining five cases, the HBV test was performed at both the pre- and post-transfusion stages in recipients 1, 4 and 5, but recipients 2 and 8 were tested only at the post-transfusion stage. Recipient 1 was a 70-year-old female who had tested negative for HBsAg and anti-HBc by EIA 2 days prior to transfusion. She was transfused with packed red blood cells (RBCs) and tested negative for HBsAg, anti-HBs and anti-HBc by EIA and negative for HBV DNA by PCR 7 months after the transfusion. These data suggest that the latest RBC component from this occult HBV donor did not cause transfusion-transmitted HBV infection. In recipients 2 and 8, the post-transfusion EIA test results for HBsAg were reported negative. Recipient 4 tested negative for HBsAg by EIA at 11 days before

Correspondence: Rika A. Furuta, Osaka Red Cross Blood Center, 2-4-43 Morinomiya, Joto-ku, Osaka 536-8505, Japan.
Tel: +81 6 6962 7066; fax: +81 6 6962 7029;
e-mail: furuta@osaka.bc.jrc.or.jp

Table 1. HBV status of the donor and recipients

Donor				Recipients							
Date of donation	Pooled NAT	ID-NAT	Copy number per mL	Component	Recipient number	Age (years)	Primary diseases*	Pretransfusion		Post-transfusion	
								HBsAg	Anti-HBc	HBsAg	Other markers
1 November 2006	‡	+	ND	—‡							
22 May 2006	—†	+	<100	RBCs	1	70	(1)	—	—	—	—, anti-HBs; —, anti-HBc; —, HBV DNA
15 April 2006	—†	+	140	RBCs	2	NA	(2)	NA	NA	—	
26 September 2005	—†	+	210	RBCs	3	NA	NA	—	NA	—**	
27 June 2005	—†	+	<100	—‡							
10 April 2005	—†	+	<100	RBCs	4	86	NA	—	NA	—	—, HBV DNA
15 February 2004	—†	+	<100	RBCs	5	60	(3)	—	NA	—	
15 September 2003	—†	+	<100	—‡							
21 March 2003	—†	+	<100	RBCs	6	69	(4)	—	NA	—**	
1 March 2002	—†	+	<100	RBCs	7	51	(5)	NA	NA	—**	
1 July 2002	—†	+	<100	RBCs	8	41	(6)	NA	NA	—	
15 January 2001	—†	+	<100	RBCs	9	57	(7)	NA	NA	—**	
1 October 1999	—§	+	<100	RBCs	10	NA	NA	NA	NA	NA	
15 April 1999	—§	—	ND	RBCs	11	NA	NA	NA	NA	NA	

NA, not applicable; ND, not determined.

*Primary Diseases: (1), perforation of sigmoid diverticulum; (2), transverse colon cancer; (3), bleeding gastric ulcer; (4), operative diseases; (5) operative diseases; (6), gastric ulcer; and (7), ovarian cancer.

†20-pooled.

‡50-pooled.

§500-pooled.

‖Not used.

**Deceased by the primary disease.

transfusion with RBCs. Furthermore, she tested negative for HBsAg at both 17 and 19 months after the transfusion. In addition, PCR results for this patient were negative for HBV DNA 21 months after transfusion. In recipient 5, it was reported that both pre- and post-transfusion sera tested negative for HBsAg by EIA. Although no further reports suggesting any signs of HBV transmission in recipients 2, 4, 5, and 8 have been filed with our blood centre, the HBV test records of these four recipients are insufficient to determine whether transfusion-transmitted HBV infection occurred.

Kanagawa Red Cross Blood Center, Japan, recently reported a case of transfusion-transmitted HBV infection caused by an individual with an occult HBV infection who had repeatedly donated platelets and whose viral load fluctuated around the limit of HBV detection level by the ID-NAT (Inaba *et al.*, 2006). It is noteworthy that the component transfused in this case was a platelet concentrate containing approximately 200 mL of plasma; on the other hand, in our subjects, the transfused component was packed RBCs including 10–15 mL of plasma. A more recent look-back study on transfusion-transmitted HBV infection conducted by the JRC Blood Center identified that only one of the 33 components obtained from occult HBV donors caused the HBV infection (Satake *et al.*, 2007). This particular patient was transfused with 450 mL of fresh frozen plasma. The same study also demonstrated that 11 of the 22 components donated during the mini-pool NAT window period resulted in transfusion-transmitted HBV infection. Although the results of recipient 1 in our case appear to be consistent with those in the look-back study, data available in the literature suggest that occult HBV infection is transmissible, especially in endemic areas (reviewed by Liu *et al.*, 2006). To clarify the potential risks of blood components from occult HBV donors, many more cases need to be analysed in detail, where the total amount of HBV in the component transfused, the presence or absence of HBV antibodies in the component, the immunological status of the recipient, the HBV genotype and/or the presence of mutation(s) should be assessed.

The peculiar criterion of seronegative used in the JRC Blood Centers was a practical solution to exclude donors with a risk of HBV infection, without excessively reducing the size of the donor pool. This criterion was introduced because the prevalence of HBV infection, when serological testing was introduced, was relatively higher in Japan than in other

industrialized countries. Our serological screening, however, has failed to identify a few occult HBV carriers with a low anti-HBc titre and a low viral DNA. JRC has been re-evaluating the efficacy of our screening strategy by follow-up surveys, including the present study, and exploring options to be adopted to minimize the risk not only by the occult HBV carrier but also by donors in the 20-NAT window period.

Although we consider that the current possibility of HBV transmission by occult HBV carriers with a low anti-HBc titre is limited in Japan, this consideration cannot be generalized to countries with different HBV prevalence as mentioned above. Once the cut off value of the anti-HBc titre confirming the HBV-DNA-negative status of the donor blood is more rigorously determined, our serological screening algorithm may be an acceptable option in areas of intermediate or high HBV endemicity where NAT is unavailable.

R. A. Furuta,* Y. Kondo,* T. Saito,* M. Tomita,*
K. Oka,* Y. Kishimoto,† Y. Tani* & T. Shibata*
*Osaka Red Cross Blood Center, Japanese Red Cross
Society, Osaka, Japan and †Department of Hematology
and Oncology, Kansai Medical University, Osaka, Japan

REFERENCES

- Iizuka, H., Ohmura, K., Ishijima, A. *et al.* (1992) Correlation between anti-HBc titers and HBV DNA in blood units without detectable HBsAg. *Vox Sanguinis*, **63**, 107–111.
- Inaba, S., Ito, A., Miyata, Y. *et al.* (2006) Individual nucleic amplification technology does not prevent all hepatitis B virus transmission by blood transfusion. *Transfusion*, **46**, 2028–2029.
- Liu, C.J., Chen, D.S. & Chen, P.J. (2006) Epidemiology of HBV infection in Asian blood donors: emphasis on occult HBV infection and the role of NAT. *Journal of Clinical Virology*, **36** (Suppl. 1), S33–S44.
- Meng, Q., Wong, C., Rangachari, A. *et al.* (2001) Automated multiplex assay system for simultaneous detection of hepatitis B virus DNA, hepatitis C virus RNA, and human immunodeficiency virus type 1 RNA. *Journal of Clinical Microbiology*, **39**, 2937–2939.
- Raimondo, G., Pollicino, T., Cacciola, I. & Squadrito, G. (2007) Occult hepatitis B virus infection. *Journal of Hepatology*, **46**, 160–170.
- Satake, M., Taira, R., Yugi, H., Hino, S., Kanemitsu, K., Ikeda, H. & Tadokoro, K. (2007) Infectivity of blood components with low hepatitis B virus DNA levels identified in a lookback program. *Transfusion*, **47**, 1197–1205.

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 2009. 2. 18	新医薬品等の区分 該当なし	総合機構処理欄
一般的名称	乾燥濃縮人血液凝固第Ⅷ因子			小松 陽樹、乾 あやの、十河 剛、 藤澤 知雄、第40回日本小児感染 症学会総会・学術集会; 2008 Nov 15-16; 名古屋市。	公表国	
販売名(企業名)	クロスエイトM250(日本赤十字社) クロスエイトM500(日本赤十字社) クロスエイトM1000(日本赤十字社)		研究報告の公表状況		日本	
研究報告の概要	<p>○母子感染以外のHBV感染によるHBV DNAの解析 【目的】小児における母子感染以外のHBV感染の実態を分子疫学的に把握する。 【方法】成人および小児HBVキャリア82名中で、母親がHBsAg陰性かつ患児以外にHBVキャリアが存在する7家族を対象とし、HBV全遺伝子解析を行い、分子系統樹を用い感染源を検索した。 【成績】HBsAg陽性例は、父親が4家族、兄弟のみが2家族(両親はHBVマーカー陰性)、祖母が1家族であった。血清が得られた7家族中3家族(2家族;父親HBsAg陽性、1家族;祖母HBsAg陽性)を対象にHBV遺伝子解析を行った。Family1は長女3歳がHBVキャリアと判明し、父親および長男5歳がHBsAg陽性、母親はHBsAb陽性であった。Family2は次男4歳がHBVキャリアと判明し、長男9歳、長女2歳がHBsAg陽性、母親がHBsAb陽性であった。Family3は、12歳女兒がB型劇症肝炎と診断され、祖母がHBVキャリア、同居の従弟が同時期にB型急性肝炎と診断された。分子系統樹解析ではいずれも家族でも高い相同性を示し、それぞれ1つのクラスターを形成したため同じ感染源であると考えられた。 【考察】アジア諸国の中でHBV浸淫度が比較的低いと考えられる本邦でも、母子感染以外のHBV感染経路は無視できない。7家族中3家族で父親以外の感染源の可能性があり、祖母からの感染は分子疫学的に感染経路を証明できた。 【結語】母子感染など感染リスクが高い集団に対してのみワクチン接種を行う“target strategy”ではこのような水平感染を完全に防止することは不可能であり、本邦でuniversal vaccinationが必要と考えられた。</p>					使用上の注意記載状況・ その他参考事項等 クロスエイトM250 クロスエイトM500 クロスエイトM1000 血液を原料とすることによる 感染症伝播等 vCJD等の伝播のリスク
	報告企業の意見 母親がHBsAg陰性かつ家族内に患者以外のHBVキャリアが存在する成人および小児HBVキャリア7家族を対象とし、HBV全遺伝子解析に基づく分子系統樹を用い感染源を検索したところ、3家族で父親以外の感染源の可能性があり、祖母からの感染は分子疫学的に感染経路を証明できたとの報告である。 これまで、本剤によるHBV感染の報告はない。また本剤の製造工程には、平成11年8月30日付医薬発第1047号に沿ったウイルス・プロセスバリデーションによって検証された2つの異なるウイルス除去・不活化工程が含まれている。さらに最終製品についてHBV-NAT陰性であることを確認していることから、特別の対応を必要としないと考える。	今後の対応 今後も引き続き情報の収集に努める。なお、日本赤十字社では献血時のスクリーニング法としてより感度の高い化学発光酵素免疫測定法(CLEIA)および新NATシステムを導入し、陽性血液を排除している。				



【研究奨励賞】

E-20 母子感染以外の HBV 感染による HBV DNA の解析

小松 陽樹、乾 あやの、十河 剛、藤澤 知雄

済生会横浜市東部病院こどもセンター

【目的】小児における母子感染以外の HBV 感染の実態を分子疫学的に把握する。【方法】当科でフォロー中の成人および小児 HBV キャリアー82名のなかで母親が HBs 抗原陰性かつ患児以外に HBV キャリアが存在する7家族を対象とした。HBs 抗原陽性の家族から得られた血清を用いて HBV 全遺伝子解析を行い、分子系統樹を用いて感染源の検索を行った。【成績】父親が HBs 抗原陽性例は4家族、兄弟のみ HBs 抗原陽性例は2家族（両親は HBV マーカー陰性）、祖母 HBs 抗原陽性例は1家族であった。7家族中3家族（2家族；父親 HBsAg 陽性、1家族；祖母 HBsAg 陽性）にて家族から血清が得られ、この3家族を対象に HBV 遺伝子解析を行った。Family1 は長女3歳が伝染性単核球症罹患時の血液検査にて HBV キャリアが判明。家族内検索にて父親および長男5歳が HBsAg 陽性、母親は HBsAb 陽性。Family2 は次男4歳が胃腸炎症罹患時の血液検査にて HBV キャリアが判明。家族内検索にて父親、長男9歳、長女2歳が HBsAg 陽性、母親は HBsAb 陽性。Family3 は、12歳女兒が黄疸と全身倦怠感を主訴に来院し、B型劇症肝炎と診断された。祖母が HBV キャリアであり、同居していた。同時期に従弟は B 型急性肝炎と診断された。分子系統樹解析では、3家族においていずれも高い相同性を示すとともに、各家族がそれぞれ1つのクラスターを形成し、同じ感染源であると考えられた。【考案】アジア諸国の中で HBV 浸透度が比較的低いと考えられる本邦でも、父子感染など母子感染以外の HBV 感染経路は無視できない。7家族中3家族で父親以外の感染源の可能性があり、祖母からの感染は分子疫学的に感染経路を証明できた。【結語】母子感染など感染リスクが高い集団に対してのみワクチン接種を行う“target strategy”ではこのような水平感染を完全に防止することは不可能であり、本邦で universal vaccination が必要と考えられた。

E-21 治療後もβ-D-グルカン高値が持続するカンジダ血症の一例

鹿間 芳明、安藤 智暁、石川 順一、赤城 邦彦

神奈川県立こども医療センター感染免疫科

β-D-グルカンは真菌細胞壁の主要成分であり、特にカンジダ感染症では感度の高い検査法として頻用されている。今回我々は、カンジダ血症に対して抗真菌剤の治療を行い、臨床症状、培養を含む検査データから治癒と考えられる状態に至ったにもかかわらず、β-D-グルカン異常高値のみが持続する男児例を経験したので報告する。症例は生来健康な4歳男児。腹痛、下痢、嘔吐のため近医数回受診の後、第8病日前医入院。第12病日皮下出血斑に気づかれ、アレルギー性紫斑病と診断されプレドニン2mg/kg/d開始されたところ翌日には腹痛消失。しかし食事開始すると腹痛・血便が再燃するため食止・再開を繰り返し、PSL開始15日目に当院転院。PSLと第13因子製剤で治療継続していたところ、入院3日目より発熱。血液培養で *Candida parapsilosis* が検出されたため MCFG にて治療開始。入院11日目の血液培養で再度同菌が検出されたためポリコナゾールを併用し、その後解熱したが入院13日目の血液培養でも陰性化していなかったため、眼科受診、腹部超音波、腹部CT、頭部CT、心臓超音波などで全身検索を行ったが、膿瘍形成や感染性心内膜炎を示唆する所見は得られなかった。抗真菌剤は2週間点滴で使用した後 VCZ+FCZ 内服に変更、再発熱や炎症反応の増悪がみられないことを確認して外来フォローとした。血中β-D-グルカンは入院時すでに1610pg/mlと高値であったがその後も増加し、退院前の最高値3460pg/ml、退院後も発熱などの症状はないが7400pg/mlまで上昇した。抗真菌剤開始後は腹部症状消失していたがむしろ便秘傾向であったため、緩下剤を開始し、抗真菌剤は合計約2ヶ月で中止とした。その後は緩やかに低下傾向であるが、発症から8ヶ月経った段階でまだ884pg/mlと高値が続いている。