

計 劃 編 號 ： DOH90-DC-1048

行政院衛生署疾病管制局九十年度委託研究計劃

研 究 成 果 報 告

計 劃 名 稱 ： 前瞻追蹤輸血後肝炎病例之長期病程研究

Long term course of prospectively followed patients with
posttransfusion hepatitis

執 行 機 構 ： 台 大 醫 院 、 國 泰 醫 院

計 劃 主 持 人 ： 王 錦 堂

研 究 人 員 ： 李 淑 華 等

執 行 期 限 ： 自 86 年 7 月 1 日 至 90 年 12 月 31 日 止

目	錄	-----1
中	文	題
要	要	-----2-3
前	言	-----4
材	料	與
方	法	-----5-7
結	果	-----8-9
討	論	-----10-11
結	論	與
建	議	-----12
參	考	文
獻	獻	-----13-17

摘要

輸血是一種重要的現代醫療行為，但卻也會造成可能的病毒感染，其中輸血後肝炎（PTH）是輸血液或血液製品最常引起的併發症。在 HBsAg 篩檢之前約有 20% 的受血者會得到 PTH，而在 HBsAg 篩檢後 C 型肝炎病毒篩檢前台灣地區輸血後肝炎發生率約為 12%，且大部分為 C 型肝炎引起，得到 C 型肝炎的患者有近 80% 的病人會成為慢性肝炎。因此 81 年 7 月起，台灣地區捐血者全面篩檢 Anti-HCV，本計劃收集各大醫院輸血之病人，做前瞻性之追蹤。結果自 81 年 7 月 1 日捐血者全面做 Anti-HCV 篩檢後至 85 年 6 月 30 日共收案 1477 例。目前這 1477 例均在追蹤之中，其中 737 例追蹤滿半年，有 16 例發生肝炎：3 例為巨細胞病毒肝炎、13 例為非 A 非 B 非 C 肝炎，且沒有 C 型肝炎之病例，篩檢之後 PTH 發生率降為 2-3%。和前五年 12% 之輸血後肝炎發生率比較顯然下降許多，且完全沒有 C 型肝炎抗體陽性病例。因此，Anti-HCV 篩檢之效果非常卓著。但以聚合鏈鎖反應偵測血清 RNA，有五例抗體陰性病人為 HCV RNA 抗體陽性，因此篩檢試劑之改進仍可再減少肝炎之病例。

前十年計劃中得到輸血後 C 型肝炎病人(anti-HCV 陽性)中，有 3 例因原來疾病死亡，6 例失去追蹤，本年度共有 68 人接受肝功能、 α -胎兒球蛋白、超音波及肝生檢檢查。最長的追蹤已近 13 年，有 2 例肝癌之病例，其中一例為 HBsAg 陽性帶原者，因輸血再感染 C 型肝炎，於輸血後五年發生肝癌。另一例為國泰醫院病人，輸血感染 C 型肝炎，3 年後發現肝癌且因而死亡。有 8 例肝炎後 2 至 9 年之肝生檢，或超音波加上 ^{99m}Tc 同位素掃瞄檢查為肝硬化，其餘為慢性活動性肝炎及慢性持續性肝炎。肝硬化病人初步定量血中 HCV 濃度較高，基因型則無差別。

追蹤約一百名 HGV 陽性之受血者，病毒消失的病人中有部份產生 Anti-E2 抗體。目前為止，肝功能血球及超音波檢查均無症狀，長期有半數為持續感染。

檢測 150 例受血病人血清中之 TTV DNA，結果輸血前有 13 例感染，其餘 137 例中，46 例(33.6%)因輸血感染 TTV，其病程類似 HGV，並無急性肝炎之現象。這

些病人接受定期追蹤至目前約 2-9 年，大部份 TT 病毒在血中持續超過半年，但各種檢查均無慢性肝炎之跡象。

以聚合酶連鎖反應檢測捐血者 HBV DNA，結果約有 8% 為陽性，但只有一位接受 HBsAg (-) HBV DNA (+) 血液之受血者有感染 HBV 的證據，因此核酸篩檢約可減少十萬分之 200 的 HBV 感染。

前 言

輸血肝炎是輸血所引起最重要的一個併發症，其中又以非 A 非 B 肝炎佔最多數⁽¹⁾。由於 C 型肝炎病毒的分子選殖及抗體的開發使得 C 型肝炎的診斷有了重大的進步^(2,3)。利用 C 型肝炎抗體在輸血後肝炎的前瞻性研究得知台灣地區絕大部分的輸血後肝炎是由於 C 型肝炎病毒引起^(4,5)，同時輸血後(非 A 非 B)C 型肝炎有百分之八十變為慢性⁽⁶⁾，這些慢性輸血後 C 型肝炎的患者有可能導致肝硬化、肝細胞癌⁽⁷⁾。另外，流行病學的研究也顯示在台灣的慢性肝病、C 型肝炎病毒是僅次於 B 型肝炎病毒的致病原^(8,9)。因此，C 型肝炎病毒感染為台灣地區公共衛生的重要問題。利用前五年前瞻性計劃得到輸血後 C 型肝炎的病人做長期追蹤，將有助於了解輸血後 C 型肝炎的自然病史及 C 型肝炎病毒與肝硬化、肝細胞癌的關係。另外，由於去年 7 月起捐血者全面做 Anti-HCV 篩檢以預防輸血後 C 型肝炎，因此追蹤篩檢受血者將可了解捐血者篩檢的成本效益與篩檢後輸血後肝炎的發生率、致病因的改變。

Anti-HCV 篩檢後發生輸血後肝炎的病人血清並可為將來選殖未知的新病毒或新的肝炎病毒發現後的研究材料。這幾年來收集之血清也有助於將來對其他輸血引起之病毒感染之研究，如 CMV^(10,11)，HTLV-I^(12,13)及 GB 型肝炎病毒^(14,15)。及最近發現之 TT 病毒(TTV)⁽¹⁶⁾

材 料 與 方 法

(一) 對 象 :

本計劃納入研究之對象包括以下四項條件均符合者：

- 1.半年內未曾輸血者。
- 2.肝功能正常者。
- 3.預估生命期超過半年以上者。
- 4.最近一個月內未服用或接觸肝毒性藥物者。

(二) 執 行 方 法 :

1.輸血前準備：

- (1).詳細詢問病名診斷、輸血之原因、記錄輸血前之血液及生化檢查及病毒標記、詢問藥物史、預估生命期。
- (2).記錄姓名、年齡、病歷號碼、身份證號碼、診斷。
- (3).記錄肝功能及肝炎標記結果（由本計劃負責測定肝功能、HBsAg、Anti-HCV 三項）。
- (4).將病人血清 4c.c.（全血 8c.c.）儲存於-70 之冰櫃。

2.輸血後兩週內：

- (1).保留所有捐血者之血漿，並儲存於-70 冰櫃內。
- (2).訪視病人並安排 2 週後抽血及門診追蹤，如果仍住院，應到病房訪視追蹤，如果已出院，應以電話或信件追蹤至門診診治(各醫院另行設置輸血後健康門診)。
- (3).輸血後兩週內應安排病人來門診，或在病房內追蹤，其項目包括問卷調查（症狀問卷）及驗血檢查（抽血 8c.c.，其血清 4c.c.），檢驗項目為 SGOT 與 SGPT，其餘肝功能暫不作，剩下的血清再冰凍於-70 冰櫃，將檢驗結果登記下來。

3.輸血兩週以後（2 週- 6 個月）

- (1) 輸血後第 4,8,12,16,20,24 週各到門診追蹤一次（共 6 次）。自第 12 週後

每隔 4 週(1 個月)追蹤一次，即第 16，20，24 週(共 3 次)。全程 6 個月，訪視追蹤門診共 9 次，加上輸血前一次共 10 次。

(2) 每次追蹤時應作問卷調查(症狀問卷)及驗血檢查(抽血 8c.c.,以血清 4c.c. 驗 SGOT 與 SGPT,其餘肝功能暫不作,剩下之血清冰凍於-70 冰櫃內),將檢驗結果記錄下來。

4.如果病人之肝功能(SGOT,SGPT)在追蹤過程中發現異常上昇時：

(1) 在 3 天-1 週內，通知病人前來驗血追蹤，做一次完整肝功能檢查(抽血 8c.c.,以血清 4c.c.)，如果肝功能明顯異常(SGPT 超過正常上限時)，加作 HBsAg, Anti-HBs, Anti-HBc, IgM-anti-HBc, IgM-anti-HAV, IgM-EBV, IgM-CMV 等血清抗體，並將剩餘之血清冰凍於-70 冰櫃。

(2) 發生肝炎時需作詳細之問卷調查，包括症狀及併發症。

(3) 肝炎發生後每週追蹤 1 次，共 4 次，然後改為每個月 1 次，追蹤 1 年整，第 2 年起每 3 個月追蹤 1 次，長期追蹤，每次追蹤均要問卷調查及驗血。(以完整肝功能為主，血清抗體部分視肝炎病毒而定)

(4) 原則上發生肝炎者應儘量作超音波檢查及生檢。

5.捐血者及受血者之 C 型肝炎病毒檢驗：

受血者輸血前後之血清及所有捐血者之血漿均以 C 型肝炎病毒抗體免疫篩檢方法及聚合 鏈鎖反應來檢驗，以確定捐血者與受血者傳染的因果關係與篩檢的效果。

二、輸血後 C 型肝炎之長期病程：

前 5 年前瞻性計劃中得到輸血後 C 型肝炎的病人：

(一).每年回來追蹤 4 次(每 3 個月 1 次),並安排超音波掃描每年 1 次，肝硬化患者半年一次，疑肝硬化患者並做同位素肝掃描 (^{99m}TC phytate liver scan),必要時應作生檢，如此追蹤到本計劃第 5 年結束。

(二) 追蹤期間另包括問卷調查及抽血肝功能及各種 C 型肝炎病毒標誌。並定量血清 HCV RNA 及基因分型。

三、HGV 病人長期追蹤: HGV 陽性病例每半年回來追蹤肝功能、血球(CBC),每

一年做一次腹部超音波。

四 TTV 感染率之檢測: 以 PCR 方法初步測定 150 位受血者輸血前後血清之 TTV DNA, 以得知其感染率。感染 TTV 之病人半年追蹤一次肝功能及血球 (CBC), 每年做一次腹部超音波, 以觀察長程變化。

五、HBV 核酸檢測:

先檢測所有受血者, 輸血前血清之 Anti-HBc、Anti-HBs, 二者均陰性者找出其捐血者之血漿, donor plasma 以 N515、N364、N366、N365 做為端子進行 PCR, 接受到 HBV DNA 陽性捐血之受血者其系列血清檢測 HBV DNA 及 HB viral markers。

Detection of HBV DNA by PCR. Nucleic acids were extracted from serum (50 微升) with proteinase K and sodium dodecyl sulfate (SDS) by the method described previously (12). Extracted DNA was dissolved in 20 微升 of Tris-HCL buffer (10 mM, pH 8.0) containing 1 mM EDTA, and heated at 95°C for 15 min, and then chilled quickly on ice. A half portion there of was subjected to PCR with Perkin-Elmer Ampli Taq DNA Polymerase (Roche Molecular Systems, Inc., Branchburg, NJ) with nested primers. The first-round PCR was performed with N364 (sense: 5'-CTG TGG AGT TAC TCT CGT TTT TGC -3') and N515 (antisense: 5'-AGA TTC CCG AGA TTG AGA TCT TCT GCG ACG -3') for 35 cycles (94°C 30 sec; 55°C, 30sec; and 72°C, 45sec an additional 7 min in the last cycle for the amplification of a product of 508 base pairs (bp). The second-round PCR was carried out with N366 (5'-TTT GGT CTC TTT CGG AGT GTG GAT TCG CAC -3') and N365 (antisense: 5'-CTA ACA TTG AGA TTC CCG AGA TTG AGA -3') for 25 cycles (94°C, 30sec; 55°C, 30sec; and 72°C, 30sec an additional 7 min in the last cycle) for the amplification of a 178-bp product. Amplification products were run by electrophoresis on 2.5% Nu Sieve 3:1 agarose (FMC Bio Products, Rockland ME), stained with ethidium bromide and observed under ultraviolet light.

Serial samples of recipients received HBV DNA positive donations will be tested for Anti-HBc, Anti-HBs, HBsAg by EIA (Abbott), and detected for HBV DNA by the above mentioned PCR assay

結 果

(一) 自 81 年 7 月 1 日捐血者全面做 Anti-HCV 篩檢後至 85 年 6 月 30 日共收案 1477 例。其中 737 例追蹤滿半年，有 16 例發生肝炎：3 例為巨細胞病毒肝炎、13 例為非 A 非 B 非 C 肝炎，且沒有 C 型肝炎抗體陽性之病例。和前五年 12% 之輸血後肝炎發生率比較，顯然下降許多且完全沒有 C 型肝炎。因此，Anti-HCV 篩檢之效果非常卓著。但其中有 5 例 Anti-HCV 陰性病人，HCV RNA 呈陽性，因此篩檢試劑仍可進一步改進。86 年 7 月起新病例之收集改由另一計劃執行，但該計劃今年終止，因此考慮明年度起恢復收新案。

(二) 前十年計劃中得到輸血後 C 型肝炎病人(anti-HCV 陽性)中，有 4 例因原疾病死亡，6 例失去追蹤，本年度共有 71 人接受肝功能、 α -胎兒球蛋白、超音波及肝生檢檢查。最長的追蹤已近 12 年，有 2 例肝癌之病例，其中一例為 HBsAg 陽性帶原者，因輸血再感染 C 型肝炎發生肝癌。另一例為國泰醫院病人，輸血感染 C 型肝炎，3 年後發現肝癌且因而死亡。有七例肝炎後 2 至 9 年之肝生檢，或超音波加上 ^{99m}Tc 同位素掃描檢查為肝硬化，其餘為慢性活動性肝炎及慢性持續性肝炎。肝硬化病人初步定量血中 HCV 濃度較高，基因型則無差別。

(三) 追蹤約一百名 HGV 陽性之受血者，目前為止，肝功能，CBC 及腹部超音波檢查均無症狀，長期有半數為持續感染。

(四) 檢測 150 例輸血病人 TTV DNA，結果輸血前有 13 例感染。其餘 137 例中，46 例 (33.6%) 因輸血感染 TTV，其病程類似 HGV，並無急性肝炎之現象。這些病人肝功能，CBC 及腹部超音波及血中 TTV 病毒定期追蹤中，大部份病人血中病毒持續存在，但並無肝炎跡象。

(五) 由約 1000 位受血者中，找出約 34 個 true naive 的受血者[輸血前 HBsAg (-) Anti-HBc (-) Anti-HBs (-) HBV DNA PCR (-)]，其中有 23 位可以追蹤找出其捐血者血漿，PCR 檢測這些捐血者 HBV DNA，結果有 11 人為接受 HBV DNA (+) 之捐血，但這 11 個受血者中只有一位血清有抗體陽轉之情形，證實有感染過 HBV 的證據。(Table 1)

Table 1. Clinical data of 11 recipients received HBV positive donations.

Patient	Sex / Age	Viral genome detected*	Peak ALT**
1	M / 36	HBV	52
2	M / 56	HBV	21
3	F / 31	-	27
4	F / 40	TTV	30
5	M / 59	-	19
6	M / 67	TTV	40
7	F / 40	-	29
8	F / 39	-	28
9	F / 43	HGV	39
10	F / 59	TTV	27
11	F / 45	-	19

* By polymerase chain reaction assays

** upper limit of normal 31IU/L

討 論

為了解 Anti-HCV 篩檢後台灣地區輸血後肝炎流行病學的改變，幾大醫院繼續前 5 年的追蹤研究。由第一年的初步結果得知篩檢的結果使輸血後肝炎的發生率降低了 10% 左右⁽¹⁶⁻¹⁸⁾，而且 C 型肝炎的病例沒有再出現。初步的結果也顯示 CMV 的感染在 Anti-HCV 篩檢後的輸血後肝炎可能扮演一個重要的角色，不過由於本年度只發現 3 個肝炎的病例，確實的結論還有待更多病例的結果而定。本年度這 3 個非 C 型的輸血後肝炎其臨床病程均較溫和，而且追蹤目前為止，沒有發生慢性肝炎的病例，雖然長期的觀查追蹤仍然必要，不過捐血者之 Anti-HCV 篩檢對國人慢性肝炎的防治有重大的助益卻是顯而易見的。國外目前也有類似的報告顯示 Anti-HCV 篩檢對預防輸血後型肝炎的效果^(19,20)。本年度比上年度累計了更多的病例，仍無 HCV 病例，可見目前所用的 Anti-HCV assay 加上 ALT 的篩檢方法非常有效。

由於國內外有許多的文獻報告慢性非 A 非 B(C)型肝炎與肝炎與肝硬化、肝細胞癌的密切關連^(7,21)。而目前國內外均無 C 型肝炎病程前瞻性的追蹤結果，因此本計劃長期追蹤這些得到輸血後 C 型肝炎的受血者。由於追蹤的期間較短(約 3-10 年)，因此目前只發現 7 例肝硬化的病人，2 例肝細胞癌病例中，一例原已感染 B 型肝炎，而另一國泰醫院病例臨床病史較不清楚。由於這些病人中有許多為心瓣膜置換手術的病人，長期服用抗凝血劑，因此肝生檢追蹤的病例不多。另外在一例肝生檢證實得到輸血後 C 型肝炎而 2 年後有早期肝硬化的病人，雖然沒有輸血前的肝生檢，但其輸血前沒有肝病病史，生化檢查肝功能正常，所有血清病毒標誌均為陰性，因此推斷肝硬化由此次之輸血後 C 型肝炎引起是合理的。這個病例顯示部分 C 型肝炎病人之病程進展可以非常快。本來肝硬化病例較多時，病毒基因型及病毒量的分析可能會對預後可做評估。

另外利用這 8 年來收集之病人血清對 HTLV-I 感染率做了傳染率的研究，發現 0.6 % 的受血者輸血後發生 HTLV-I 感染。由於 HTLV-I 的感染可能導致淋巴白血病與神經疾病，HTLV-I 的篩檢是否必要，有待進一步的評估⁽²²⁻²⁵⁾。

1995 年至 96 年間有 2 個病毒 GBV-C virus/ hepatitis G virus(HGV)被選殖成功^(14,15,26)，本研究之檢體可用來檢測 HGV 的結果，約 10% HGV RNA 陽性，但大部分患者無明顯疾病⁽²⁷⁻²⁹⁾，HGV 在捐血者盛行率為 2.1% 其中約 40% 在受血者造成感染，感染 HGV 之受血者一半為持續性感染⁽³⁰⁾。

1997 年另有一新的肝炎相關的病毒 TTV 由輸血後肝炎病人血中選殖出來⁽¹⁶⁾，初步發現可在人類造成感染^(31,32)，本研究收集血清對此病在受血者得知感染率約為 33.6%，長期病毒持續率甚高，雖然不引起肝炎，但由於其高感染率，需小心觀察，其臨床意義待更進一步分析⁽³³⁾。

HBV 核酸篩檢目前頗受大家的重視，也有一些國家已經利用核酸篩檢來檢測捐血者的 HBV^(34,35)。目前根據我們的研究，約有 8% 的捐血者為 HBsAg(-) 但 HBV DNA PCR(+)，並且只有 1/11 的受血者接受到這樣的血液確定會有 HBV 的感染，而另外一方面 1000 位受血者中約有 34 個未感染過 HBV，綜合我們的研究，估計利用核酸篩檢 HBV，每年百萬人次的捐血約可以減少 200 例的 HBV clinical 和 subclinical 感染 ($34/1000 \times 1/11 \times 8/100 \times 100$ 萬)。

結 論 與 建 議

1. 第一年之結果證明 Anti-HCV 篩檢之效益，但仍有巨細胞病毒肝炎病毒及 A 非 B 非 C 肝炎病例發生。少數 Anti-HCV 陰性之輸血後肝炎患者，HCV RNA 為陽性，因此篩檢方法可再改進。
2. C 型肝炎的自然病程仍未清楚，本研究觀查期尚短，須等待更久的追蹤才能解答此一問題，初步觀察病毒量似較容易引起肝硬化。
3. GBV-C / HGV, TTV 以本研究結果顯示大部分不引起肝炎，因此暫無必要篩檢。但 TTV 高感染率需小心追蹤。
4. B 型肝炎核酸檢測之研究成果可作為核酸篩檢之成本效益之評估
5. 本研究中之血清隨時可評估為其他輸血可能傳染之疾病的高感染與臨床表現，因此應用新病毒或新的感染原等的發展。

參 考 文 獻

1. Alter HJ, Holland PV, Purcell RH. Posttransfusion hepatitis after exclusion of commercial and hepatitis B antigen positive donors. *Ann Intern Med* 1972;77:691-699.
2. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989;244:359-362.
3. Kuo G, Choo QL, Alter HJ, et al. An assay for circulatory antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science* 1989;244:362-364.
4. Lee SD, Tsai YT, Hwang SJ, et al. A prospective study of posttransfusion non-A, non-B (type C) hepatitis following cardiovascular surgery in Taiwan. *J Med Virol* 1991;33:188-192.
5. Wang TH, Wang JT, Lin JT, Sheu JC, Sung JL, Chen DS. A prospective study of posttransfusion hepatitis in Taiwan. *Journal of Hepatology*, 1991;13:38-43.
6. Wang JT, Wang TH, Sheu JC, Lin JT, Wang CY, Chen DS. Posttransfusion hepatitis revisited by synthetic peptide immunoassays and polymerase chain reaction for hepatitis C virus. *Gastroenterology* 1992;103:609-616.
7. Bruix J, Barrera JM, Calvet X, et al. Prevalence of antibodies to hepatitis C virus in Spanish patients with hepatocellular carcinoma and hepatic cirrhosis. *Lancet* 1989;2:1004-1006.
8. Lee SD, Chan CY, Wang YJ, Wu JC, Lai KH, Tsai YT, Lo KJ. Seroepidemiology of hepatitis C virus infection in Taiwan. *Hepatology* 1991;13:830-833.
9. Chen DS, Kuo GC, Sung JL, Lai MY, Sheu JC, Chen PJ, et al. Hepatitis C virus infection in an area hyperendemic for hepatitis B and chronic liver disease: The

- Taiwan experience. *J Inf Dis* 1990;162:817-822.
10. Ping-Ing Lee, Mei-Hwei Chang, Wuh-Liang Hwu, Chuan-Liang Kao, and Chin-Yun Lee. Transfusion-Acquired Cytomegalovirus Infection in Children in a Hyperendemic Area. *Journal of Medical Virology* 1992;36:49-53
 11. Tegtmeyer GE(1986): Transfusion-transmitted cytomegalovirus infections: significance and control. *Vox Sang* 51:22-30.
 12. Cohen ND, Munoz A, Reitz BA, Ness PK, Frazier OH, Yawn DH, Lee H, Blsttner W, Donahue JG, Nelson KE, Polk BF: Transmission of retroviruses by transfusion of screened blood in patients undergoing cardiac surgery. *N Eng1 J Med* 1988;320:1172.
 13. Larson CJ, Taswell HF: Human T-cell leukemia virus type I (HTLV-I) and blood transfusion. *Mayo Clin Proc* 1988; 63:867.
 14. Simons JN, Leary TP, Dawson GJ, Pilot-Matias TJ, Scott Muerhoff A, Schlauder GG, desai & Mushahwar IK SM: Isolation of nvel cirus-like sequences associated with human hepatitis. *Nature medicine* 1995;1:564.
 15. Simons, J.N. et al. Identification of two flavivirus-like genomes in the GB hepatitis agent. *Proc. natn. Acad. Sci. U.S.A.* 1988 92, 3401-3405.
 16. Tsutomu Nishizawa, Hiroaki Okamoto, Keiko Konishi, hiroshi Yoshizawa, Uuzo Miyakawa, and Makoto Mayumi. A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997;241:92-97.
 17. Wang YJ, lee SD, Hwang SJ, et al. Incidence of posttransfusion hepatitis before and after screening for hepatitis C virus antibody. *Vox Sang* 1994;67:187-190.
 18. Wang JT, Wang Th, Lin JT, Lee CZ, Sheu Jc, Chen DS. Effect of hepatitis C antibody screening in blood donors on posttransfusion hepatitis in Taiwan. *J*

Gastroenterol Hepatol (in Press).

19. Japanese Red Cross Non-A, Non-B Hepatitis Research Group. Effect of screening for hepatitis C virus antibody and hepatitis B virus core antibody on incidence of posttransfusion hepatitis. *The Lancet* 1991;338:1040-1041.
20. Donahue JG, Munoz A, Ness PM, Brown DE, Yawn DH, Mcallister HA, Reitz BA, Nelson KE. The declining risk of posttransfusion hepatitis C virus infection. *New Eng J Med* 1992;327:3690-373.
21. Sheu JC, Hung GT, Shih LN, Lee WC, Chou HC, Wang JT, et al. Hepatitis C and B viruses in hepatitis B surface antigen-negative hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*.1992;103:1322-1327.
22. Blattner WA Takatsuki K, Gallo RC: human T-cell leukemia/lymphoma virus and adult T-cell leukemia. *JAMA* 1983 250:1074.
23. Gessain A, Barin F, Vernant JC, Gout O, Maurs L, Calender A, de The G: Antibodies to human T-lymphotropic virus type-I in patients with tropical paraparesis. *Lancet* 1985;2:407.
24. Osame M, Usuku K, Izumo S, Ijichi N, Amitani H, Igata A, Matsumoto M, Tara M: HTLV-I associated myelopathy, a new clinical entity. *Lancet* 1986;1:1031.
25. Wang JT, Lin MT, Chen PJ, Sheu JC Lin JT, Wang TH, Chen DS. Transfusion-transmitted human T-cell lymphotropic virus type I infection in Taiwan: a true risk and occasional coinfection with hepatitis C virus revealed in a prospective study. *Blood* 1994;84:934-940.
26. Chang Y, Cesarman F, Pessin MS, et al. Identification of new human hwepe virus-like DNA sequences in AIDS-associated Kaposi's sarcoma. *Science* 1994;266:1865-1869.
27. Wang JT, Tasi FT, Lee CZ, Chen PJ, Sheu JC, Wang TH, et al. A prospective study of transfusion-transmitted GB virus C infection: similar frequency but

- different clinical presentation compared with hepatitis C virus. *Blood* 1996;88:1881-1886.
28. Alter MJ, Gallagher M, Morris T, et al. Acute non-A-E hepatitis in the United States and the role of hepatitis G-virus infection. *N Engl J Med* 1997;336:741-746.
 29. Alter HJ, Nakatsuji Y, Melpolder J, et al. The incidence of transfusion-associated hepatitis G virus infection and its relation to liver disease. *N Engl J Med* 1997;336:747-754.
 30. Wang JT, Chen PJ, Liu DP, Sheu JC, Wang TH, Chen DS. Prevalence and infectivity of hepatitis G virus and its strain variant, the GB agent, in volunteer blood donors in Taiwan. *Transfusion*.1998;290-295.
 31. P Simmonds, F Davidson, C Lycett, L E Prescott, D M MacDonald, J Ellender, PL Yap, C A Ludlam, G H Haydon, J Gillon, L M Jarvis. Detection of a novel DNA virus (TTV) in blood donors and blood products. *Lancet*. 1998;352:191-195.
 32. Nikolai V Naoumov, Elena P Petrova, Mark G Thomas, Roger Williams. Presence of a newly described human DNA virus (TTV) in patients with liver disease. *Lancet*. 1998;352:195-197.
 33. Wang JT, Lee CZ, Kao JH, Sheu JC, Wang TH, and Chen DS. Incidence and clinical presentation of posttransfusion TT virus infection in prospectively followed transfusion recipients: emphasis on its relevance to hepatitis. *Transfusion*. 2000;40:596-601.
 34. Stramer SL. Nucleic acid testing for transfusion-transmissible agents. *Current Opinion in Hematology*. 2000; 7:387-91.
 35. Japanese Red Cross Plasma Fractionation Center. Nationwide nucleic acid amplification testing of hepatitis B virus, hepatitis C virus and human

immunodeficiency virus type 1 for blood transfusion and follow-up study of nucleic acid amplification positive donors. Japanese Red Cross NAT Screening Research Group. *Jpn J Infect Dis.* 2000;53:116-23.