

## NATコントロールサーベイ事業 2018年度 実績報告

事業代表者 浜口 功 国立感染症研究所 血液・安全性研究部 部長

### 1. 事業の目的

最近の NAT 技術の進歩は目覚ましく、我が国においても 2013-14 年に血漿分画製剤の原料プールと輸血用血液の NAT スクリーニングの試験法がそれぞれ新しいマルチプレックス法に更新された。それを踏まえて、2014 年の薬食発 0730 第 1 号により「血液製剤のウイルスに対する安全性確保を目的とした核酸増幅検査 (NAT) の実施に関するガイドライン (以下、NAT ガイドライン)」の改正と輸血用血液スクリーニングへの個別 NAT 導入に伴う NAT 感度の改正が行われた。

2017 年度は新しいマルチプレックス法を用いた HIV-1 NAT の特異性の実情把握を目的として WHO HIV-1 サブタイプパネルを用いた第 9 回 NAT コントロールサーベイを、輸血用血液の NAT スクリーニング試験と HIV-1 確認試験を対象として実施し、HIV-1 に関する精度管理が適切に実施され、調査した HIV-1 サブタイプ全てが問題なく検出されることを確認した。

2018 年度は新しいマルチプレックス法を用いた HIV-1 NAT の特異性の実情把握を目的として WHO HIV-1 サブタイプパネルを用いた第 9 回 NAT コントロールサーベイを、血漿分画製剤の原料血漿プールの NAT 試験を対象として実施した。

### 2. 実施内容

#### 1) 参加施設 (表1 P4)

国内外の血漿分画製剤製造所等の全 5 施設。オブザーバーとして、試薬メーカー1施設。

#### 2) パネルの調製 (表2 P5)

材料に第 2 次 HIV-1 サブタイプ WHO 国際参照パネル、第 3 次 HIV-1 RNA WHO 国際標準品、第 1 次 HIV-2 RNA WHO 国際標準品、及び第 1 次 HIV-RNA 国内標準品を使用し、希釈には陰性血漿 (HCV 抗体, HBs 抗原, HIV-1/2 抗体, 3 ウイルスの NAT 全てが陰性) を用いた。NAT ガイドラインにおける原料血漿プールの HIV-1 NAT の目標感度の 1 倍濃度にあたる 100 IU/mL に検体を希釈調整した。参考として HIV-1 RNA 国際標準品及び HIV-RNA 国内標準品は目標感度の 0.5 倍濃度にあたる 50 IU/mL に希釈した検体も作成した。陰性検体を加えた計 16 検体をブラインド化したパネルを参加者に送付した。

#### 3) 測定

(1) 血漿分画製剤の原料血漿プール NAT 実施施設は、コバス TaqScreen MPX v2.0 (ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社) を用いて測定した。この試験法は HBV, HCV, HIV-1 の 3 ウィ

ルスを検出すると同時に種類を同定する。参加施設は検体 No.01-16 について日を変えて 3 回測定した (No.05 は原料に用いたパネル検体の力価が低かったため、3 回分の検体が準備できなかったため、1 回のみ測定とした)。

(2) 試薬メーカーもコバス TaqScreen MPX v2.0 (ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社) を用いて測定した。検体 No.01-16 について日を変えて 3 回測定した (No.05 と No.08 は 3 回分の検体が準備できなかったため、No.05 は 1 回分、No.08 は 2 回分のみ測定とした)。

#### 4) 結果

##### (1) 血漿分画製剤の原料血漿プール NAT (表 3 P6)

全施設において HIV-1 サブタイプ A、B、C、D、AE、F、G、AG-GH、N、及び O の HIV-1 を検出できることを確認した。陰性対照はすべて陰性と判定された。また国際標準品および国内標準品を用いて作製した 100 IU/mL 検体、50 IU/mL 検体全て検出できることを確認した。HIV-2 検体も検出を確認した。血漿分画製剤の原料血漿プール NAT 実施施設全 5 施設において改正後の NAT ガイドラインに基づいて実施している NAT 試験は、HIV-1 に関する精度管理が適切に実施されていた。

##### (2) 試薬メーカーにおける NAT

HIV-1 サブタイプ A、B、C、D、AE、F、G、AG-GH、N、及び O の HIV-1 を検出できることを確認した。陰性対照はすべて陰性と判定された。国際標準品および国内標準品を用いて作製した検体は 100 IU/mL 検体、50 IU/mL 検体全て検出できることを確認した。HIV-2 検体も検出を確認した。

#### 3. 考察

2017-2018 年度に実施した WHO HIV-1 サブタイプパネルを用いた第 9 回 NAT コントロールサーベイにて、輸血用血液の NAT スクリーニング試験と HIV-1 確認試験、血漿分画製剤の原料血漿プールの HIV-1 NAT 試験において、HIV-1 サブタイプ A、B、C、D、AE、F、G、AG-GH、N、及び O を検出できることを確認できた。試験を実施した全施設において、HIV-1 NAT 試験に関する精度管理が適切に実施されていることを確認した。

また試験を実施した全施設において、国際標準品および国内標準品を用いて作製した低濃度検体 (100IU/ml および 50IU/ml) の検出も可能であった。サーベイ担当者からの意見としては、輸血用血液の NAT スクリーニング試験と HIV-1 確認試験に使用されている Procleix Ultrio Elite ABD Assay の性能を鑑み、現在の NAT ガイドラインで定められている輸血用血液製剤の HIV-1 NAT の目標感度 (200 IU/mL) を原料血漿プールの HIV-1 NAT の目標感度 (100 IU/mL) と同等程度に変更することについて今後検討していくことが可能ではないかと考えられた。

#### 4. 2019 年度の実施計画 (表 4 P7)

新しいマルチプレックス法における HCV NAT の特異性の実情把握を目的とした第 10 回 NAT コントロールサーベイの実施を計画している。しかしながら、HCV NAT の感度・精度・特異性の評価のための HCV-RNA 国際参照パネルは現在 WHO にて未だ制定されていないため、国内献血を用いて HCV-RNA 国内参照パネル候補品を国立感染症研究所にて作成し、多施設共同研究を実施し候補品の力価を国際標準品に基づいて制定した(別添 1 P8)。新規に制定した HCV-RNA 国内参照パネル、HCV-RNA 国内標準品、参考として国内外で検出された HCV-RNA 遺伝子型からなる市販血漿パネルを用いて評価用のパネルを作製しサーベイを実施する。

# 表1 参加施設一覧

## 2018年度 血漿分画製剤製造所

一般社団法人 日本血液製剤機構

KMバイオリジクス株式会社

日本製薬株式会社

シャイアー・ジャパン株式会社

CSLベーリング株式会社

以上5施設

オブザーバー参加施設

ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社

## 表2 HIV-1サブタイプパネル

検体番号	試料	HIV-1 サブタイプ	表示力価 ( IU/mL )	濃度 ( IU/mL )
01	第2次HIV-1 サブタイプ WHO国際参照パネル	A	3715	100
02		B	8913	100
03		C	3715	100
04		D	4074	100
05		F	550	100
06		AE	2089	100
07		G	4266	100
08		AG-GH	10965	100
09		N	4266	100
10		O	5623	100
11	陰性血漿		-	-
12	第4次HIV-1 RNA WHO国際標準品	B	185,000	100
13				50
14	第1次HIV-RNA 国内標準品	B	75,000	100
15				50
16	第1次HIV-2 RNA WHO国際標準品		1,000	100

日を変えて3回測定（ただしNo.05は原料に用いたパネル検体の力価が低かったため、3回分の希釈検体が準備できなかったため、1回のみ測定とした）

# 表3 血漿分画製剤の原料血漿プールのNAT 参加5施設全体のHIV検出結果

検体番号	試料	HIV-1 サブタイプ	濃度 ( IU/mL )	検出施設
01	第2次HIV-1 サブタイプ WHO国際参照パネル	A	100	5/5
02		B	100	5/5
03		C	100	5/5
04		D	100	5/5
05		F	100	5/5
06		AE	100	5/5
07		G	100	5/5
08		AG-GH	100	5/5
09		N	100	5/5
10		O	100	5/5
11	陰性血漿		-	0/5
12	第4次HIV-1 RNA WHO国際標準品	B	100	5/5
13			50	5/5
14	第1次HIV-RNA 国内標準品	B	100	5/5
15			50	5/5
16	第1次HIV-2 RNA WHO国際標準品		100	5/5

# 表4 HCV NAT 遺伝子型パネル (案)

検体番号	試料	HCV 遺伝子型	表示力価 (IU/mL)	濃度 (IU/mL)
01 ~ 07	HCV 国内参照パネル	1b, 2a, 2b	23442 ~ 51286	300
		neg	-	-
	第1次HCV RNA 国内標準品	1b	260,000	300
08 ~ 15	参考試料: HCV RNA Genotype AccuTrak Qualification Panel (Sera Care)	1a, 1b, 2a/c, 2b, 3a, 4a, 5a, 6	128,000 107,000 185,000 51,400 57,300 16,200 70,600 179,000	300

血液製剤のウイルス核酸増幅検査 (NAT) 用 HCV-RNA 国内参照パネル候補品  
力価制定のための多施設共同研究結果

国立感染症研究所 血液・安全性研究部

池辺 詠美

松岡 佐保子

浜口 功

金沢工業大学 加齢医工学先端技術研究所 山口照英

平素より格別のご高配を賜り、厚く御礼申し上げます。

血液製剤の安全対策として核酸増幅検査 (NAT) によるウイルスの高感度検出は極めて重要ですが、HCV-NAT の感度・精度・特異性の評価のための HCV-RNA 国際参照パネルは現在 WHO にて制定されていないため、この度、国内献血を用いて HCV-RNA 国内参照パネル候補品を作成し、多施設共同研究にてこの候補品の力価を制定する共同研究を実施いたしました。共同測定の結果、下記の通り国際標準品の力価に基づいた国内参照パネルの力価が算出されましたので、表示力価として制定したく、ご参加いただいた各施設にご報告いたします。本結果につきましては、今後、血液事業部会安全技術調査会にて報告し、HCV-RNA 国内参照パネルとしての承認および今後予定される HCV-NAT コントロールサーベイの検体としての使用の承認をいただく予定です。

#### 1. 共同研究参加施設 (6施設)

- ・国立感染症研究所戸山庁舎 (ウイルス二部)
- ・国立感染症研究所村山庁舎 (血液・安全性研究部)
- ・国立医薬品食品衛生研究所
- ・埼玉医科大学病院
- ・アボットジャパン株式会社
- ・ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社

参加施設の記載順と報告書の施設 No. とは無関係である。

#### 2. 評価方法

力価の測定については、国立感染症研究所より参加施設に国内参照パネル候補品と HCV-NAT 第 5 次国際標準品 (NIBSC code:14/510, 表示力価 100,000 IU/mL) 及び希釈用 HCV 陰性血漿を送付した。参加施設は直線性の成立する用量範囲で 3 段階の希釈系列を作成し、日常実施している定量 HCV-NAT 法にて日を変えて 3 回測定した。その結果を国立感染症研究所が解析した。



## 別添 1

HCV サブタイプ系統解析(RT-PCR/ダイレクトシーケンス)、HCV 抗体(CLIA: アーキテクト・HCV)、HCV コア抗原(CLIA: HCV Ag・アボット)については、国立感染症研究所が国内参照パネル候補品を検査会社(LSI メディエンス)に測定依頼した。

### 3. 結果

国内の6施設が力価測定に参加し、6組の結果が報告された。2施設がコバスTaqMan HCV「オート」v2.0を、2施設がアキュジーンm-HCVを、2施設が In-houseのTaqMan PCR法を用いて測定した。国立感染症研究所が統計解析を行い、測定力価および国際標準品に対する相対力価を算出した(次ページ [HCV国内参照パネル候補品測定解析結果参照](#))。国際標準品に対する相対力価として算出した全施設の国内参照パネルの力価の幾何平均値を表示力価とすることとした(表1)。検体名HCV\_06の陰性検体は、全ての施設で力価陰性であった。

表 1 : HCV-RNA 国内参照パネル候補品評価結果

検体名	HCV サブタイプ	HCV抗体		HCVコア抗原 (fmol/L)	表示力価 (Log <sub>10</sub> IU/mL)	95%信頼区間 (Log <sub>10</sub> IU/mL)
		判定	S/CO			
HCV_01	2A	陽性	2.3	47.3	4.71	4.56-4.86
HCV_02	2B	陽性	7.16	31.7	4.52	4.37-4.68
HCV_03	1B	陽性	8.31	57.6	4.71	4.51-4.92
HCV_04	2B	陰性	0.41	20.7	4.37	4.24-4.51
HCV_05	1B	陽性	2.75	59.6	4.67	4.47-4.88
HCV_06	-	-	-	-	-	-

別添 1

HCV 国内参照パネル候補品測定解析結果

測定法 CT--コバス TaqMan HCV 「オート」 v2.0

AG--アキュジーン m-HCV

LD--In-house TaqMan PCR

HCV 国際標準品および国内参照パネル候補品測定力価

国際標準品測定力価

GCV% 7.3%

施設 No.	1	2	3	4	5	6	Ave
測定法	CT	AG	CT	LD	AG	LD	
測定力価	4.78	4.82	4.80	5.34	4.32	5.18	<b>4.87</b>
95% CI LL	4.74	4.58	4.61	5.11	3.97	4.74	<b>4.60</b>
95% CI UL	4.80	4.92	4.88	5.43	4.47	5.37	<b>5.15</b>

HCV\_01 測定力価

GCV% 7.7%

施設 No.	1	2	3	4	5	6	Ave
測定法	CT	AG	CT	LD	AG	LD	
測定力価	4.58	4.39	4.52	5.28	4.29	4.32	<b>4.56</b>
95% CI LL	4.43	4.33	4.39	5.12	4.15	3.62	<b>4.29</b>
95% CI UL	4.64	4.41	4.58	5.34	4.34	4.63	<b>4.83</b>

HCV\_02 測定力価

GCV% 7.1%

施設 No.	1	2	3	4	5	6	Ave
測定法	CT	AG	CT	LD	AG	LD	
測定力価	4.33	4.19	4.30	5.09	4.51	4.31	<b>4.46</b>
95% CI LL	4.16	4.08	4.13	4.85	4.36	4.02	<b>4.21</b>
95% CI UL	4.40	4.23	4.37	5.19	4.58	4.44	<b>4.69</b>

HCV\_03 測定力価

GCV% 8.1%

施設 No.	1	2	3	4	5	6	Ave
測定法	CT	AG	CT	LD	AG	LD	
測定力価	4.54	4.37	4.49	5.42	4.32	4.57	<b>4.62</b>
95% CI LL	4.49	4.25	4.39	5.20	4.17	4.45	<b>4.32</b>
95% CI UL	4.56	4.42	4.53	5.51	4.38	4.62	<b>4.91</b>

別添 1

HCV\_04 測定力価

GCV% 8.8%

施設 No.	1	2	3	4	5	6	Ave
測定法	CT	AG	CT	LD	AG	LD	
測定力価	4.15	4.07	4.13	4.98	3.91	4.00	<b>4.20</b>
95% CI LL	4.06	3.98	3.83	4.87	3.81	3.57	<b>3.92</b>
95% CI UL	4.18	4.10	4.25	5.03	3.94	4.18	<b>4.48</b>

HCV\_05 測定力価

GCV% 8.4%

施設 No.	1	2	3	4	5	6	Ave
測定法	CT	AG	CT	LD	AG	LD	
測定力価	4.55	4.35	4.52	5.39	4.27	4.51	<b>4.60</b>
95% CI LL	4.38	4.30	4.36	5.35	4.18	4.37	<b>4.30</b>
95% CI UL	4.62	4.36	4.59	5.41	4.30	4.57	<b>4.89</b>

HCV\_06 測定力価

施設 No.	1	2	3	4	5	6	Ave
測定法	CT	AG	CT	LD	AG	LD	
測定力価	ND	ND	ND	ND	ND	ND	<b>ND</b>
95% CI LL	-	-	-	-	-	-	-
95% CI UL	-	-	-	-	-	-	-

別添 1

HCV 国際標準品に対する国内参照パネル候補品相対力価

HCV\_01 相対力価

GCV% 4.1%

施設 No.	1	2	3	4	5	6	Ave
測定法	CT	AG	CT	LD	AG	LD	
相対力価	4.75	4.51	4.76	4.92	4.89	4.45	<b>4.71</b>
95% CI LL	4.51	4.41	3.51	4.68	4.65	3.28	<b>4.56</b>
95% CI UL	4.85	4.55	4.93	5.01	4.99	5.04	<b>4.86</b>

HCV\_02 相対力価

GCV% 4.5%

施設 No.	1	2	3	4	5	6	Ave
測定法	CT	AG	CT	LD	AG	LD	
相対力価	4.46	4.29	4.54	4.75	4.77	4.33	<b>4.52</b>
95% CI LL	4.35	3.99	3.14	4.42	4.40	3.55	<b>4.37</b>
95% CI UL	4.51	4.42	4.73	4.89	4.92	4.69	<b>4.68</b>

HCV\_03 相対力価

GCV% 5.7%

施設 No.	1	2	3	4	5	6	Ave
測定法	CT	AG	CT	LD	AG	LD	
相対力価	4.68	4.46	4.74	5.10	4.92	4.39	<b>4.71</b>
95% CI LL	4.49	4.41	3.45	4.78	4.68	3.78	<b>4.51</b>
95% CI UL	4.76	4.48	4.90	5.24	5.02	4.66	<b>4.92</b>

HCV\_04 相対力価

GCV% 4.0%

施設 No.	1	2	3	4	5	6	Ave
測定法	CT	AG	CT	LD	AG	LD	
相対力価	4.40	4.24	4.30	4.63	4.50	4.16	<b>4.37</b>
95% CI LL	4.19	4.01	2.55	4.28	4.20	3.21	<b>4.24</b>
95% CI UL	4.49	4.33	4.56	4.78	4.63	4.61	<b>4.51</b>

HCV\_05 相対力価

GCV% 5.7%

施設 No.	1	2	3	4	5	6	Ave
測定法	CT	AG	CT	LD	AG	LD	
相対力価	4.71	4.44	4.74	5.08	4.77	4.32	<b>4.67</b>
95% CI LL	4.34	4.25	3.20	4.80	4.40	3.93	<b>4.47</b>
95% CI UL	4.87	4.53	4.95	5.19	4.93	4.49	<b>4.88</b>

HCV 国際標準品に対する国内参照パネル候補品相対力価のヒストグラム

