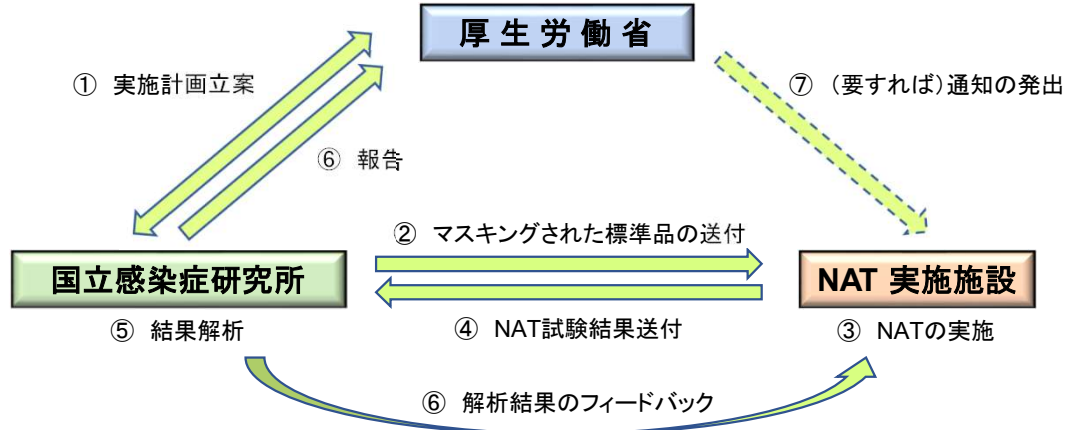


NATコントロールサーベイ事業の概要

事業目的・実施内容

- 血液製剤の安全性確保のために、メーカー等のNAT実施施設において適切な精度管理が実施されていることを確認するもの
- 血液事業部会運営委員会において、メーカー等のNAT実施施設に対し、定期的にコントロールサーベイを実施することが求められている
- 平成22年に出されたWHOガイドラインにより、献血血液のスクリーニング実施施設において外部品質検査の実施が求められている
- 日本国内におけるNAT実施施設それぞれにおいて、マスキングされた標準の検体を測定することで、各施設におけるNATの感度や精度を相互に比較することが可能になるため、**公的な第3者機関である国立感染症研究所で標準検体を作製しコントロールサーベイを実施する必要がある**

実施主体 : 国立感染症研究所
対象(NAT実施施設) : 献血スクリーニング施設、血漿分画製剤製造所、民間の衛生検査所、その他



- ① 厚生労働省と感染研で、対象となるウイルス等を決定し、NATコントロールサーベイの実施計画を立案。
- ② 実施計画に基づき、コントロールサーベイの対象となるNAT実施施設にマスキングされた標準品を送付。(必要に応じ感染研で標準品を入手又は作成する。)
- ③ 標準品に対し、NATを実施する。
- ④ NATの結果を感染研に送付する。
- ⑤ 各施設から送付されてきた結果を解析し、とりまとめる。
- ⑥ とりまとめた結果を、厚生労働省に報告するとともに、各解析対象の施設にフィードバックする。
- ⑦ 感染研からの報告、是正等の措置が必要となった場合、必要に応じて通知を発出する等により対処する。

NATコントロールサーベイ事業の履歴一覧

回	年度	対象ウイルス・備考	予算
第1回	2006	HBV NAT	厚生労働科学研究費補助金
-	2007		
第2回	2008	HCV/ HIV-1 NAT	
第3回	2009	HBV genotype NAT	
第4回	2010	HIV-1 NAT for Blood Screening	
第5回	2011	HCV genotype NAT	厚生労働省 NATコントロール サーベイ事業
第6回	2012	HBV genotype NAT for IVD	
-	2013-2014	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新しいマルチプレックス法に更新	
-	2013	cobas s201 設置・評価	
-	2014	HCV/ HIV-1国内標準品への微量HBV混入調査	
第7回	2015	Multiplex NAT for Source Plasma and Blood Screening (HBV/ HCV/ HIV)	
第8回	2016	HBV genotype NAT for Source Plasma and Blood Screening	
第9回	2017	HIV subtype NAT for Blood Screening	
	2018	HIV subtype NAT for Source Plasma	
第10回	2019	HCV genotype NAT for Source Plasma and Blood Screening	
第11回	2020	HIV-1 CRF NAT for Source Plasma and Blood Screening	
	2020	輸血用血液のNATスクリーニング試験法がHEVの検出を加えたマルチプレックス法に更新	
第12回	2021	HBV/ HCV/ HIV-1/ HEV NAT for Blood Screening	
第13回	2022	Multiplex NAT for Source Plasma (HBV/ HCV/ HIV-1)	
第14回	2023	Multiplex NAT for Blood Screening (HBV/ HCV/ HIV-1/ HEV)	

今後の検討課題	PVB19	HAV	HEV genotype panel
	HBV/ HCV/ HIV 国内標準品の更新		

NATコントロールサーベイ事業 2022年度 実績報告

事業代表者 水上 拓郎

国立感染症研究所 次世代生物学的製剤研究センター センター長

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)」の改正が行われ、薬食血発 0730 第 2 号により輸血用血液スクリーニングへの個別 NAT 導入に伴う NAT に必要とされる検出限界値の改正が行われた。以降、2016 年度に新しいマルチプレックス法を用いた HBV NAT の検出感度と特異性の実情把握を目的として WHO HBV ジェノタイプ国際参照パネルを用いた第 8 回 NAT コントロールサーベイ、2017-18 年度に HIV-1 NAT の検出感度と特異性の実情把握を目的として WHO HIV-1 サブタイプ国際参照パネルを用いた第 9 回 NAT コントロールサーベイ、2019 年度に HCV NAT の検出感度と特異性の実情把握を目的として HCV サブタイプ国内参照パネルを用いた第 10 回 NAT コントロールサーベイ、2020 年度に新しいマルチプレックス法における HIV-1 NAT の検出感度と特異性の実情把握を目的として WHO HIV-1 CRF 国際参照パネルを用いた第 11 回 NAT コントロールサーベイを実施した。さらに輸血用血液の NAT スクリーニング試験法が 2020 年 8 月より HEV の検出を加えたマルチプレックス法に更新されたことから、2021 年度は HBV, HCV, HIV-1, HEV の 4 ウイルスパネルを用いて、新試験法のそれぞれのウイルスに対する検出感度と特異性の把握を目的とした第 12 回 NAT コントロールサーベイを実施してきた。

第 13 回 NAT コントロールサーベイでは血漿分画製剤の原料血漿プールの NAT を実施する施設を対象に、HBV, HCV, HIV-1 NAT の感度と特異性の把握を目的として HBV, HCV, HIV-1 の 3 ウイルスパネルを用いたサーベイを実施する。

2. 実施内容

1) 参加施設 (表 1)

血漿分画製剤の原料血漿プールの NAT 実施施設 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)

材料として、HBV, HCV, HIV-1 国内標準品を用いて評価用のパネルを作製した。国内標準品の希釈には、陰性血漿 (HCV 抗体、HBs 抗原、HIV-1/2 抗体、及び HBV、HCV、HIV-1/2、HEV の NAT 全てが陰性)、あるいは 3 ウイルスの何れかが高濃度 ($>10^4$ IU/mL) に含まれる陽性血漿を用いた。標的ウイルスの低濃度陽性検体として、輸血用血液の NAT で必要とされる検出限界値 (HBV: 100 IU/mL, HCV: 100 IU/mL, HIV-1: 200 IU/mL) の 1.5 倍あるいは 3 倍濃度にあたる 300 IU/mL に検体を希釈調製した。陰性対照検体も含めた計 10 検体をブラインド化したパネルを参加施設に送付した。

3) 測定

血漿分画製剤の原料血漿プール NAT 実施施設と試薬メーカーは、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-1/2 の 3 ウイルスを検出すると同時に種類を同定する。参加施設は上記の 10 検体についてそれぞれ日を変えて 3 回測定した。

4) 結果

(1) 血漿分画製剤の原料血漿プール NAT (表 3 および 4)

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、HBV、HCV、および HIV-1 に関する精度管理が適切に実施されていた。全施設において HBV、HCV、および HIV-1 の低濃度 (300 IU/mL) に希釈された検体および高濃度の他のウイルスが混在した検体 ($>10^4$ IU/mL) でも標的のウイルスが特異的に検出・同定できることが確認された。陰性対照は全て陰性と判定された。なお HIV-1 国内標準品にはごく微量の HBV DNA が混在することが確認されている (平成 26 年度 第 2 回血液事業部会安全技術調査会報告事項)。従って、HIV-1 陽性血漿 ($>10^4$ IU/mL) を用いて作製した低濃度 HCV 陽性検体は、HIV-1 と HCV だけでなく、HBV も検出され得ることが想定される。

表 4 に示した通り、当該検体 (検体番号 03) における測定結果では全ての施設で HIV-1 と HCV が検出・同定されている。さらに 5 施設の合計 45 回の測定機会のうち、5 回で HBV が検出された。この 5 回の検出機会における各ウイルスの CT 値は、ウイルス量の多い順から、HIV-1 が 28.7~30.6 (平均値: 30.1)、HCV が 33.4~34.2 (平均値: 33.8)、HBV が 35.7~38.6 (平均値: 37.9) であった。HBV の平均 CT 値に対する Δ CT は HIV-1 が 7.7、HCV が 4.0 であった。

(2) 試薬メーカーにおける NAT

オブザーバーとして参加した試薬メーカーにて実施されている NAT 試験は HBV、HCV、および HIV-1 の低濃度 (300 IU/mL) に希釈された検体および高濃度の他のウイ

ルスが混在した検体 ($>10^4$ IU/mL) でも標的のウイルスが特異的に検出・同定できることが確認された。陰性対照は全て陰性と判定された。検体番号 03 において HBV は検出されなかった。

3. 考察

2022 年度に実施した HBV, HCV, HIV-1 の 3 ウイルスパネルを用いた第 13 回 NAT コントロールサーベイにて、血漿分画製剤の原料血漿プールの NAT 試験において HBV、HCV、および HIV-1 の各ウイルスの陽性検体を検出できたことから、試験の精度管理が適切に実施されていることが確認された。全施設において HBV、HCV、HIV-1 の低濃度 (300 IU/mL) に希釈された検体および高濃度の他のウイルスが混在した検体 ($>10^4$ IU/mL) でも標的のウイルスが特異的に検出・同定された。

HIV-1 国内標準品にはごく微量の HBV DNA が混在することが確認されている (平成 26 年度 第 2 回血液事業部会安全技術調査会報告事項)。HIV-1 国内標準品血漿を用いて HCV を低濃度に希釈した検体 (検体番号 03) において、検出された HCV と HBV の平均 CT 値の差から、当該検体中の HBV DNA 量は HCV の 1/16 量以下 (18.8 IU/mL 以下) であったことが推定された。これは輸血用血液の NAT で必要とされる検出限界値 (HBV: 100 IU/mL, HCV: 100 IU/mL) を大きく下回っていた。全 5 施設の合計 45 回の測定機会のうち 5 回のみで HBV が検出されたことから、混在する HBV DNA 量は試験法の検出感度付近であると考えられた。本邦で実施されている血漿分画製剤の原料血漿プールの NAT 試験では、極めて低濃度 (18.8 IU/mL 以下) のウイルスを検出可能な高感度の試験法であることが示唆された。今後は国内標準品の更新と整備についても検討を進めていきたい。

4. 2023 年度の実施計画 (表 5)

輸血用血液の NAT スクリーニング試験法が 2020 年 8 月より HEV の検出を加えたマルチプレックス法に更新された。2023 年度は、輸血用血液の NAT 実施施設を対象に、新しい試験法における HBV、HCV、HIV-1、および HEV の 4 ウイルス NAT の検出感度と特異性の実情把握を目的とした第 14 回 NAT コントロールサーベイの実施を計画している。

表1. 参加施設一覧

血漿分画製剤製造所

一般社団法人 日本血液製剤機構

KMバイオロジクス株式会社

武田薬品工業株式会社 (成田工場)

武田薬品工業株式会社 (Vienna)

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・ダイアグノスティクス株式会社

表2. 国内標準品を用いた3ウイルスパネル

番号	検体	濃度 (IU/mL)	希釈血漿
01~10 ブラインド化 して測定	低濃度HBV陽性検体	HBV 300	HCV陽性血漿 (>10 ⁴ IU/mL)
			HIV-1陽性血漿 (>10 ⁴ IU/mL)
			陰性血漿
	低濃度HCV陽性検体	HCV 300	HBV陽性血漿 (>10 ⁴ IU/mL)
			HIV-1陽性血漿 (>10 ⁴ IU/mL)
			陰性血漿
	低濃度HIV-1陽性検体	HIV-1 300	HBV陽性血漿 (>10 ⁴ IU/mL)
			HCV陽性血漿 (>10 ⁴ IU/mL)
			陰性血漿
	陰性検体	-	陰性血漿

表3. 血漿分画製剤会社の3ウイルス検出・同定結果

検体番号	Day1			Day2			Day3		
	HBV	HCV	HIV	HBV	HCV	HIV	HBV	HCV	HIV
01	5/5	0/5	0/5	5/5	0/5	0/5	5/5	0/5	0/5
02	0/5	5/5	5/5	0/5	5/5	5/5	0/5	5/5	5/5
03 (※)	2/5	5/5	5/5	1/5	5/5	5/5	2/5	5/5	5/5
04	5/5	0/5	5/5	5/5	0/5	5/5	5/5	0/5	5/5
05	0/5	0/5	5/5	0/5	0/5	5/5	0/5	0/5	5/5
06	5/5	5/5	0/5	5/5	5/5	0/5	5/5	5/5	0/5
07	0/5	5/5	0/5	0/5	5/5	0/5	0/5	5/5	0/5
08	5/5	5/5	0/5	5/5	5/5	0/5	5/5	5/5	0/5
09	5/5	0/5	5/5	5/5	0/5	5/5	5/5	0/5	5/5
10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

(※) 検体番号03 : 低濃度HCV陽性検体 (300 IU/mL) + HIV-1陽性血漿 (>10⁴ IU/mL) + HBV

表4. 3ウイルスが陽性となった例におけるCT値 (検体番号03)

検体番号	件数	CT値		
		HBV	HCV	HIV
03 (※)	1	38.4	33.4	30.5
	2	35.7	34.2	30.2
	3	38.0	33.9	30.6
	4	38.6	34.1	30.6
	5	38.6	33.6	28.7
	平均値	37.9	33.8	30.1
	ΔCT	—	4.0	7.7

(※) 検体番号03 : 低濃度HCV陽性検体 (300 IU/mL) + HIV-1陽性血漿 (>10⁴ IU/mL) + HBV

表5. 国内標準品を用いた4ウイルスパネル (案)

対象試験	番号	検体	濃度 (IU/mL)	希釈血漿
スクリーニング試験	1	低濃度HBV陽性検体	HBV 300	HEV陽性血漿 ($>3 \times 10^3$ IU/mL)
	2			陰性血漿
	3	低濃度HCV陽性検体	HCV 300	HEV陽性血漿 ($>3 \times 10^3$ IU/mL)
	4			陰性血漿
	5	低濃度HIV-1陽性検体	HIV-1 300	HEV陽性血漿 ($>3 \times 10^3$ IU/mL)
	6			陰性血漿
	7	低濃度HEV陽性検体	HEV 300	HBV陽性血漿 ($>3 \times 10^3$ IU/mL)
	8			HCV陽性血漿 ($>3 \times 10^3$ IU/mL)
	9			HIV-1陽性血漿 ($>3 \times 10^3$ IU/mL)
	10			陰性血漿
	11	陰性検体	—	陰性血漿
同定試験	12	低濃度HBV陽性検体	HBV 300	HCV陽性血漿 ($>3 \times 10^3$ IU/mL)
	13			HIV-1陽性血漿 ($>3 \times 10^3$ IU/mL)
	14			HEV陽性血漿 ($>3 \times 10^3$ IU/mL)
	15	低濃度HCV陽性検体	HCV 300	HBV陽性血漿 ($>3 \times 10^3$ IU/mL)
	16			HIV-1陽性血漿 ($>3 \times 10^3$ IU/mL)
	17			HEV陽性血漿 ($>3 \times 10^3$ IU/mL)
	18	低濃度HIV-1陽性検体	HIV-1 300	HBV陽性血漿 ($>3 \times 10^3$ IU/mL)
	19			HCV陽性血漿 ($>3 \times 10^3$ IU/mL)
	20			HEV陽性血漿 ($>3 \times 10^3$ IU/mL)