

NAT コントロールサーベイ事業 2017 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における 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た。

2. 実施内容

1) 参加施設（表 1）

輸血用血液製剤の NAT 実施施設 8 施設。

オブザーバーとして、試薬メーカー 1 施設、研究施設 1 施設。

2) パネルの調製（表 2）

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*を用いた。NAT ガイドラインにおける輸血用血液製剤の HIV-1 NAT の目標感度の 1 倍濃度（200 IU/mL）検体、陰性検体及び参考として目標感度の 0.5 倍濃度（100 IU/mL）検体、目標感度の 0.25 倍濃度（50 IU/mL）検体からなるパネルを調製し、ブラインド化して参加者に送付した。

*： HCV 抗体，HBs 抗原，HIV-1/2 抗体，3 ウイルスの NAT 全てが陰性。

3) 測定

（1）輸血用血液製剤の NAT 実施施設と研究施設は Procleix Ultrio Elite ABD Assay（ノバルティス ファーマ株式会社）を用いて測定した。この試験法は個別検体のスクリーニング試験（HBV、HCV、HIV-1 の 3 ウイルスを識別せず検出する）とスクリーニング陽性検体のウイルスを識別するための識別試験とからなっている。参加施設はスクリーニング試験と HIV-1 識別試験の両方の試験法を用いて検体 No.01-18 について日を

変えて2回測定した(No.06とNo.18は原料に用いたパネル検体の力価が低かったため、2回分の希釈検体が準備できなかったため、1回のみの測定とした)。

(2) 試薬メーカー施設はコバス 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。この試験法は3ウイルスを検出すると同時に種類を同定する。検体 No.01-18 を日を変えて2回測定した(No.06とNo.18は原料に用いたパネル検体の力価が低かったため、2回分の希釈検体が準備できなかったため、1回のみの測定とした)。

4) 結果

(1) 輸血用血液製剤の NAT (表3、4)

日本赤十字社ブロック血液センター全8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、スクリーニング試験法と HIV-1 確認試験法の両方において 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 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 200 IU/mL 検体、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。

(2) 研究施設および試薬メーカーの 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 200 IU/mL 検体、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

今回の NAT サーベイにて、日本赤十字社ブロック血液センターにおいて、マルチプレックス法を更新後も全施設において HIV-1 に関する精度管理が適切に実施され、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。また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。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)と同等に変更することについて今後検討していくことが可能と考えられた。

4. 2018 年度の実施計画 (表5)

新しいマルチプレックス法における 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、原料血

漿プールの NAT を対象として実施する。

5. 2019 年度以降の実施計画

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て、HCV の遺伝子型パネルを用いた第 10 回 NAT コントロールサーベイの実施を計画している。しかしながら現在 HCV 遺伝子型パネルは WHO で制定されていない。そこで、2018 年～国立感染症研究所で HCV 遺伝子型パネルを作製し、多施設共同研究にて国際標準品に基づいた力価を策定する。

6. NAT コントロールサーベイの実施手順書の作製について（表 6）

今回 WHO HIV-1 サブタイプパネルを用いた NAT コントロールサーベイを実施するにあたり、検体作製時に、希釈前の WHO HIV-1 サブタイプパネル検体について HIV-RNA 定量検査（ロシュ コバス 6800/8800 システム HIV-1）を実施したところ、表示力価と定量結果に乖離が認められた検体があった。特に表示力価よりも定量結果が大きく低値であった検体 No.2 については、200IU/ml に希釈して作製した残検体を定量測定した結果、検体のばらつきが大きく、希釈目標値の 200IU/ml を下回る検体が散見された。サーベイ用検体のウイルス濃度のばらつきが大きい理由については、高力価の国際標準品・参照品を低力価に希釈調整する場合、希釈検体のウイルス濃度のばらつきが大きくなること、NAT がサイクル単位の検査である以上、数倍の誤差が生じることはやむを得ないことなどが考えられた。

NAT 試験法の改良に伴い、NAT ガイドラインに定められている HBV、HCV、HIV-1 の 3 ウイルスの NAT における目標感度（95%の確率で検出される検出感度）は低濃度に制定されている。目標感度の 1 倍濃度以下の検体は、希釈調整の結果ばらつきが大きくなり、サーベイにおける検出の判定に影響を及ぼす場合がある。国立感染症研究所、日本赤十字社、厚生労働省が協議した結果、低濃度の検体をサーベイに用いた時の判定や再検査の手順等について文書化しておくことが望ましいと考えられた。これを機に、国立感染症研究所が NAT コントロールサーベイの実施手順書を作製した。