

日本赤十字社血液事業本部

## 日本赤十字社における HEV NAT スクリーニングの導入について

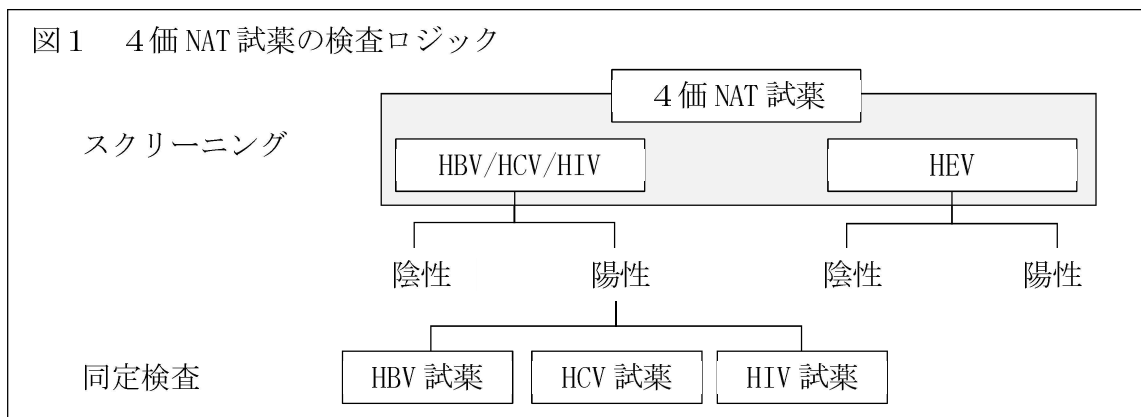
### 1 はじめに

輸血用血液製剤の HEV 安全対策については、HEV NAT の全数検査に向けた技術開発として、平成30年度から HBV, HCV, HIV に加え HEV も同時に検出する試薬（以下「4価 NAT 試薬」という。）の開発を試薬メーカーと取り組んできたところであり、その進捗状況については令和元年度第1回安全技術調査会において報告したところである。

今般、4価 NAT 試薬の評価試験が終了し、現行 NAT 試薬と同等な性能を有し、かつ HEV を高感度に検出できることが確認できたことから、4価 NAT 試薬を用いた HEV NAT の全数検査を開始することとしたので報告する。

### 2 4価 NAT 試薬を用いた NAT システム

現行の NAT システムは、HBV DNA, HCV RNA, HIV RNA の何れかが陽性であれば検出することができるマルチプレックス試薬を使用している。4価 NAT 試薬は、このマルチプレックス試薬に HEV RNA 検出用プライマー・プローブを追加して開発したもので、一度の検査で HBV DNA, HCV RNA, HIV RNA の検出とは別に HEV RNA を検出することができる（図1）。また、抽出・増幅・検出を全自動で行う既存の検査機器をそのまま使用することができ、検体量や検査所要時間も現行とほぼ同じであるため、検査体制を大幅に変更することなく導入することが可能である。



### 3 4価 NAT 試薬の評価試験

分析感度試験、特異性試験、再現性試験、重感染陽性検体反応性試験及び並行試験により4価 NAT 試薬の性能評価を行った結果、4価 NAT 試薬は、現行 NAT 試薬と同等な性能を有し、かつ HEV を高感度に検出できることを確認した。

### (1) 分析感度試験

WHO 国際標準品を用いて算出した 95%検出限界は、現行 NAT 試薬と同等の検出感度であり、NAT ガイドライン (HBV, HCV は 100 IU/mL 以下、HIV は 200 IU/mL 以下) にも適合した (表 1)。

表 1 WHO 国際標準品を用いた 95%検出限界 (IU/mL)

項目	WHO 国際標準品の パネル No.	4 価 NAT 試薬	現行 NAT 試薬
HBV	10/266 (NIBSC)	3.1	3.7
HCV	14/150 (NIBSC)	7.2	11.0
HIV-1	16/194 (NIBSC)	52.8	77.5
HIV-2	16/296 (NIBSC)	2.8	2.3
HEV	6329/10 (PEI)	4.9	7.9 (※)

4 価 NAT 試薬は 2 ロットの合算値、現行 NAT 試薬は 1 ロットの値

NIBSC: National Institute for Biological Standard and Control

PEI: Paul-Ehrlich-Institute

※ 北海道地区で試行的に実施している HEV NAT 試薬の添付文書より

### (2) 特異性試験

表 2 に示した遺伝子型の市販及び自家製の陽性パネル (163 本) は、全て検出可能であった。

表 2 特異性試験に使用した陽性パネル

項目	由来	遺伝子型 (Genotype/Subtype)	本数
HBV	5086/08 (PEI)	A, B, C, D, E, F, G	15
	日赤パネル	A, B, C, D, E, F, H	30
HCV	14/290 (NIBSC)	1a, 1b, 2i, 3a, 4r, 5a, 6l	7
	日赤パネル	1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 6a	30
HIV-1	12/224 (NIBSC)	A, B, C, D, AE, F, G, AG-GH, N, O	10
	日赤パネル	A, B, C, CRF01 AE, CRF02 AG, CRF11 cpx, G	30
HEV	8578/13 (PEI)	1a, 1e, 2a, 3b, 3c, 3e, 3f, 3(rabbit), 4c, 4g	11
	日赤パネル	3a, 3b, 3e, 3f, 3i, 3, 4b, 4c	30

### (3) 再現性試験

同時再現性試験及び日差再現性試験として、分析感度試験で使用したパネル (HBV, HCV, HEV は 100 IU/mL、HIV-1, HIV-2 は 200 IU/mL) の 8 重測定を 3 日間行ったところ、全て陽性と判定された。また、試薬ロット間の再現性試験として、分析感度試験及び特異性試験 (日赤パネルのみ) の結果を 2 ロット間で比較したところ同等であった。

#### (4) 重感染陽性検体反応性試験

重感染陽性検体について、たとえば HBV と HCV であれば、表 3 に示した濃度になるように各々のウイルスをスパイクして「HBV 高濃度+HCV 低濃度」、「HBV 低濃度+HCV 高濃度」及び「HBV 低濃度+HCV 低濃度」の 3 検体を調製し、他のウイルスの組み合わせにおいても同様な方法で合計 18 検体を調製した。いずれの検体においても、高濃度又は低濃度でスパイクしたウイルスの検出が可能であった。

表 3 重感染陽性検体反応性試験に使用したウイルス濃度

ウイルス	ウイルス濃度 (IU/mL)	
	高濃度	低濃度
HBV	1.0×10 <sup>8</sup> 程度	100
HCV	1.0×10 <sup>7</sup> 程度	100
HIV-1	1.0×10 <sup>6</sup> 程度	200
HEV	1.0×10 <sup>6</sup> 程度	100

#### (5) 並行試験

関東甲信越ブロック血液センターの検体 15,213 本について、現行 NAT 試薬と並行試験を実施した。HBV/HCV/HIV は現行 NAT 試薬と 99.928% (15,202/15,213) の一致率を示した。HEV の陽性率は 0.184% であった (表 4)。

表 4 4 価 NAT 試薬と現行 NAT 試薬の並行試験

試薬	検査本数	HBV/HCV/HIV		HEV	
		陽性本数 (※)	陽性率	陽性本数	陽性率
4 価 NAT 試薬	15,213	12	0.079 %	28	0.184 %
現行 NAT 試薬		7	0.046 %		

※ HBV/HCV/HIV については、両試薬で反応性に乖離がみられたが、両試薬とも同じレベルで高感度であるため、検出限界付近の低濃度検体の場合は、測定用検体にウイルスが入る場合と入らない場合があり、そのために生じたばらつきなのか、非特異反応によるものかは判別できなかった。

#### 4 HEV NAT スクリーニングの開始時期

4 価 NAT 試薬を用いた HEV NAT の全数検査を令和 2 年 8 月 5 日採血の検体から実施する。なお、HEV NAT 実施済みの輸血用血液製剤については、製造工程の違いにより順次供給を開始するが、新鮮凍結血漿 (FFP) 及び FFP を使用し製造する合成血については貯留保管 6 か月後の来年 2 月以降から順次供給予定である。