

NATコントロールサーベイ事業 2020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 WHO 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を実施した。

HIV-1 はサブタイプ間の組換え体が存在し、ある地域における流行に重要な役割を果たしている組換え型流行株 [circulating recombinant forms (CRFs)] が複数報告されている。2020 年度は WHO HIV-1 CRF 国際参照パネルを用いて HIV-1 の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た第 11 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及び HIV-1 識別試験並びに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)

輸血用血液製剤の NAT 実施施設 8 施設と国内外の血漿分画製剤製造所の 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、研究施設 1 施設。

2) パネルの調製 (表 2)

材料として、WHO HIV-1 CRF 国際参照パネル(NIBSC code:13/214)を用いて評価用のパネルを作製した。陰性血漿検体ならびに陽性検体の希釈には国内献血由来の陰性血漿 (HCV 抗体, HBs 抗原, HIV-1/2 抗体, 及び HBV, HCV, HIV-1/2 の NAT 全てが陰

性)を用いた。原料血漿プールの HIV-1 NAT で必要とされる検出限界値の 3 倍濃度に
あたる 300 IU/mL に検体を希釈調製した。計 11 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

(1) 輸血用血液製剤の NAT 実施施設と研究施設は Procleix UltrioPlex E ABD Assay(グ
リフォルス株式会社)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-1/2 を識別せず検出し、同時に HEV を単独で検出する)と HBV、
HCV、HIV-1/2 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-1/2 識別試験の両方の試験法を用いて検体 No.01-11 について日を変えて
2 回測定した (No.01、03、10 の検体は原料に用いたパネル検体の力価が低かったため、
2 回分の検体が準備できなかったため、1 回のみでの測定とした)。

(2) 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。参加施設は検体
No.01-11 について日を変えて 2 回測定した (No.01、03、10 の検体は原料に用いたパネ
ル検体の力価が低かったため、2 回分の検体が準備できなかったため、1 回のみでの測定と
した)。

4) 結果

(1) 輸血用血液製剤の NAT (表 3)

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-1/2 識別試験法の両方
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 WHO HIV-
1 CRF 国際参照パネルを構成する 10 種類の Subtype/CRF 検体を全て検出できること
を確認した。陰性対照はすべて陰性と判定された。

(2) 血漿分画製剤の原料血漿プール NAT (表 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、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 WHO HIV-1 CRF 国際参照パネルを構成する 10 種類の
Subtype/CRF 検体を全て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。

(3) 研究施設および試薬メーカーにおける NAT

参加した研究施設および試薬メーカーにて実施されている NAT 試験は、WHO HIV-1
CRF 国際参照パネルを構成する 10 種類の Subtype/CRF 検体を全て検出できることを
確認した。陰性対照はすべて陰性と判定された。

3. 考察

2020年度に実施した 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にて、輸血用血液の NAT スクリーニング試験と HIV-1/2 識別試験、血漿分画製剤の原料血漿プールの NAT 試験において、10 種類の異なる Subtype/CRF の HIV-1 陽性検体を問題なく検出できることを確認できた。陰性対照はすべて陰性と判定された。HIV-1 の CRFs は続々と発見されており、今回検査した Subtype/CRF はその一部ではあるが、第 9 回の NAT コントロールサーベイにおいて 10 種類の WHO HIV-1 サブタイプ国際参照パネル検体を問題なく検出したことと合わせ、試験対象施設全 13 施設において、様々な HIV-1 Subtype/CRF 検体を問題なく検出できることが確認できた。今後も HIV-1 の Subtype/CRF の流行や世界分布に留意して検体を準備し、HIV-1 NAT のコントロールサーベイを実施していきたい。

4. 2021 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。2021 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、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 12 回 NAT コントロールサーベイの実施を計画している。HBV、HCV、HIV-1 については、輸血用血液の NAT で必要とされる検出限界値(HBV 100IU/mL, HCV 100IU/mL, HIV-1 200IU/mL)とその 3 倍濃度の 2 種の検体を作製予定である。HEV-NAT については、輸血用血液の NAT で必要とされる検出限界値はまだ設定されていない。独 Paul Ehrlich Institute の推奨する HEV-NAT の最低感度は 2000IU/mL であるが、日本赤十字社の導入した検査システムの 95%分析感度は 3.6IU/mL と極めて低いことを鑑み、HBV、HCV と同様の 100 IU/mL とその 3 倍濃度の 2 種の検体を作製しサーベイを実施したいと考えている。

表1 参加施設一覧

日本赤十字社	
北海道ブロック血液センター	
東北ブロック血液センター	
関東甲信越ブロック血液センター	
関東甲信越ブロック血液センター	埼玉製造所
東海北陸ブロック血液センター	
近畿ブロック血液センター	
中四国ブロック血液センター	
九州ブロック血液センター	
	以上 8施設

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	
日本製薬株式会社	
武田薬品工業株式会社	
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	
日本赤十字社	中央血液研究所
ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社	

表2 HIV-1 CRF パネル

検体番号	試料	HIV-1 Subtype/Group	表示力価 (Log10 IU/ml)	濃度 (IU/mL)
01	HIV-1 CRF 国際参照パネル	Group O	3.37	300
02		CRF 11 GJ	3.54	300
03		CRF 02 AG	3.43	300
04		CRF 01 AE	3.71	300
05		CRF01, A, G, J, U	3.74	300
06	陰性血漿	-	-	-
07	HIV-1 CRF 国際参照パネル	Subtype J	4.45	300
08		Subtype C	3.66	300
09		Subtype G	3.78	300
10		CRF ADG	3.18	300
11		CRF BG 24	3.74	300

日を変えて2回測定 (01、03、10の検体は 1回測定)

表3 日本赤十字社ブロック血液センターのHIV-1検出・同定結果

検体番号	試料	HIV-1 Subtype/Group	濃度 (IU/mL)	検出施設
01	HIV-1 CRF 国際参照パネル	Group O	300	8/8
02		CRF 11 GJ	300	8/8
03		CRF 02 AG	300	8/8
04		CRF 01 AE	300	8/8
05		CRF01, A, G, J, U	300	8/8
06	陰性血漿	-	-	0/8
07	HIV-1 CRF 国際参照パネル	Subtype J	300	8/8
08		Subtype C	300	8/8
09		Subtype G	300	8/8
10		CRF ADG	300	8/8
11		CRF BG 24	300	8/8

表4 血漿分画製剤会社のHIV-1検出・同定結果

検体番号	試料	HIV-1 Subtype/Group	濃度 (IU/mL)	検出施設
01	HIV-1 CRF 国際参照パネル	Group O	300	5/5
02		CRF 11 GJ	300	5/5
03		CRF 02 AG	300	5/5
04		CRF 01 AE	300	5/5
05		CRF01, A, G, J, U	300	5/5
06	陰性血漿	-	-	0/5
07	HIV-1 CRF 国際参照パネル	Subtype J	300	5/5
08		Subtype C	300	5/5
09		Subtype G	300	5/5
10		CRF ADG	300	5/5
11		CRF BG 24	300	5/5

表5 4ウイルス NATパネル (案)

検体番号	試料	Genotype/Subtype	表示力価 (IU/mL)	検体濃度 (IU/mL)	
01 ~ 09	HBV DNA国内標準品	Genotype C	1.06x10 ⁶	300	
				100	
	HCV RNA国内標準品	Genotype 1b	2.6x10 ⁵	300	
				100	
	HIV RNA国内標準品	Subtype B	7.5x10 ⁴	600	
				200	
	HEV RNA国内標準品	Genotype 3b	2.5x10 ⁵	300	
				100	
	陰性血漿			-	-

日を変えて2回測定