

令和3年度第4回安全技術調査会の審議結果について

- ・ 令和3年度第4回安全技術調査の審議結果について（概要）…………… 1

【安全技術調査会 当日資料】

- ・ 資料1 感染症安全対策体制整備事業（令和2年度）実績報告…………… 4
- ・ 資料2 NATコントロールサーベイ事業 2020年度 実績報告…………… 9
- ・ 資料3 日本赤十字社におけるヘモビジランス 2020…………… 17
- ・ 資料4 日本赤十字社におけるHEV NATスクリーニング導入後の状況について…… 49

令和3年度第4回安全技術調査会の審議結果について（概要）

1 開催日時・場所

令和3年10月26日（火）15:00～17:00

日比谷国際ビルコンファレンススクエア8階 8D会議室

（東京都千代田区内幸町2-2-3 日比谷国際ビル8階）（Web会議）

2 出席者 ※五十音順、敬称略

○安全技術調査会委員（10名）

朝比奈 靖浩、天野 景裕、荒戸 照世、内田 恵理子、大隈 和、岡崎 仁、岡田 義昭、熊川 みどり、長村 登紀子、濱口 功（欠席 脇田 隆子）

○日本赤十字社（3名）

佐竹 正博、後藤 直子、谷重 直子

○参考人（2名）

水上 拓郎（国立感染症研究所 血液・安全性研究部 第1室 室長）

松岡 佐保子（国立感染症研究所 血液・安全性研究部 第2室 室長）

3 議事概要

○議題1 感染症安全対策体制整備事業について

本事業は血液対策課が国立感染症研究所に実施を依頼している事業であり、国内に侵入し日本の献血血液への混入のリスクのある病原体について、血中ウイルス量の低い無症候性感染者が献血する場合等を想定し、高感度の核酸検査法を整備し、将来的な血液の安全性対策に資することを目的としている。

水上参考人より、2020年度の成果として、新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）に対する高感度核酸検査法を開発したこと、臨床血液検体を用いた高感度核酸検査体制を構築し、COVID-19回復者血漿療法の臨床研究におけるCOVID-19回復者の血液検体を用いたSARS-CoV-2核酸検査の結果、全ての検体からSARS-CoV-2のRNAは検出されなかったこと、COVID-19核酸検査のための国内参照品の作製と値付けを行ったこと等が報告された。2021年度は、SARS-CoV-2変異対策としての高感度multiplex RT-PCR法の構築等に取り組む予定であることが報告された。

（委員からの主なご意見）

- ・ 高感度核酸検査法の開発において、primerセットのスクリーニングで用いたPCR primerの配列を公開してほしい。

○議題2 NATコントロールサーベイ事業について

本事業は血液対策課が国立感染症研究所に実施を依頼している事業であり、国内のNAT実施施設におけるNATの精度管理の実情を把握することを目的としている。

松岡参考人より、2020年度の成果として、WHO HIV-1 CRF 国際参照パネルを用いた NAT コントロールサーベイを輸血用血液製剤の NAT 実施施設 8 施設及び血漿分画製剤の原料血漿プール NAT 実施施設 5 施設を対象に実施した結果、全施設において HIV-1 NAT の精度管理が適切に実施されていることが確認されたと報告された。2021 年度は、輸血用血液の NAT 実施施設を対象に、2020 年 8 月より更新された HEV の検出を加えたマルチプレックス法における HBV、HCV、HIV-1、HEV の 4 ウイルス NAT の精度管理の実情把握を目的とした NAT コントロールサーベイを実施する予定であることが報告された。

○議題3 日本赤十字社のヘモビジランスについて

日本赤十字社より、医療機関から報告された輸血感染症、遡及調査、輸血副作用等について報告がなされた。

2014 年の個別 NAT 導入以降、輸血後の感染疑い例の年間報告件数は 100 例以下が続いている。2020 年に発生した輸血による感染症は HBV 感染が 2 例、細菌感染が 2 例、HEV 感染が 6 例の計 10 例であり、輸血による HEV 感染については、3 例が医療機関からの報告、3 例が遡及調査からの報告であった。なお、2020 年 8 月 5 日採血分よりスクリーニング HEV-NAT が開始されており、HEV-NAT 導入後の製剤において HEV 感染症例は認められていない。

2020 年に報告された輸血副作用は約 2600 件であり、非溶血性副作用が大半を占めていた。非溶血性副作用の約 4 分の 1 が重篤であり、重症アレルギーや呼吸困難が主な症状であった。残りの約 4 分の 3 は軽微なアレルギーや発熱が主な症状であった。

(委員からの主なご意見)

- ・ HEV-NAT 導入後の遡及調査について、保管検体を用いて実施した HEV-NAT が陽性となった献血血液から製造された FFP 1 本と原料血漿 13 本を供給停止した旨又は提供しなかった旨を資料に明記すべきでないか。
- ・ TRALI 防止のため、2011 年から 400mL の全血採血から作られる血漿製剤である FFP は、男性の血液を優先的に使用し製造されているはずなので、TRALI 症例の原因製剤を示すグラフにおいても 2004 年から 2020 年までを纏めるのではなく、2011 年の前後に分けて示した方が取組の効果がより分かりやすくなるのではないか。
- ・ 輸血による HEV 感染が成立する最低ウイルス量について情報収集を行い、場合によっては今後のウイルス低減化の指標を見直す必要があるのではないか。

○議題4 HEV NAT スクリーニングの導入について

日本赤十字社より、HBV、HCV、HIV に加え HEV を同時に検出する試薬（4 価 NAT 試薬）を用いた HEV NAT の全数スクリーニングを令和 2 年 8 月 5 日採血分から導入し約 1 年が経過したことから、導入後の状況について報告がなされた。

年代別・性別の HEV NAT 陽性数と陽性率が示され、HEV NAT 陽性率は、男性 0.060%、女性 0.043%であった。地域別の HEV NAT 陽性率においては、最も高い関東甲信越と最も低い九州で 3.6 倍の差が見られた。HEV 陽性検体における HEV RNA 濃度が示され、約半数が定量限界以下だった。HEV 陽性検体において遺伝子型の解析を行った結果、98.6%が Genotype

3、1.4%が Genotype 4 であった。また、HEV の遡及調査の結果が示された。

(委員からの主なご意見)

- ・ 議題 3 と同様、HEV-NAT 導入後の遡及調査について、保管検体を用いて実施した HEV-NAT が陽性となった献血血液から製造された原料血漿 13 本を提供しなかった旨を資料に明記すべきでないか。

以上

感染症安全対策体制整備事業(令和2年度)実績報告

事業代表者 濱口 功 国立感染症研究所 血液・安全性研究部 部長

報告者 水上 拓郎 国立感染症研究所 血液・安全性研究部 1室 室長

1. 事業の目的

輸血用血液製剤を含む血液製剤は、ヒト血液を原料とするためウイルス等の病原体混入のリスクが常に存在している。日本では、血液製剤の安全性確保のため、血液を介して感染する主要な病原体である HIV, HCV, HBV や梅毒、パルボウイルス B19 等に関しては、血清学的検査、核酸増幅検査が実施されており、極めて高い安全性が保持されてきた。しかし、グローバル化が進む現代においては国内ではほとんど発生例のないような感染症、特に海外での新興・再興感染症が国内に輸入され、問題となることが少なくない。平成 26 年(2014 年) 8 月には約 70 年ぶりのデング熱の国内発生例が確認され、平成 27 年(2015 年) には南米やアメリカのフロリダ州でジカ熱が大流行し、また同時期にアフリカや南米で黄熱が大流行し、平成 28 年(2016 年) 3 月には中国でアジア初の輸入症例として報告された。このような世界の一部の地域に限局的に発生していた感染症の病原体の日本への移入を想定し、平成 25 年 4 月より新たな病原体が移入した場合に備えて国立感染症研究所と厚生労働省血液対策課、日本赤十字社とが連携し「**感染症安全対策体制整備事業**」を開始した。

本事業では国内に侵入し日本の献血血液への混入のリスクのある病原体について、血中ウイルス量の低い無症候性感染者が献血する場合等を想定し、高感度の核酸検査法を整備し、将来的な血液の安全性対策に資することを目的としている。現在までに、新規病原体に対する高感度核酸検査法の開発およびモニタリングを実施し、新たな感染症リスクの早期把握と評価を実施しており、特に、デングウイルス、チクングニアウイルス、ジカウイルス、黄熱ウイルスの高感度核酸検出系を開発してきた。

令和2年度は 2019 年末より発生した新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)に関し、高感度核酸検査法を開発し、臨床血液検体を用いて高感度核酸検査を実施した。さらに、COVID-19 核酸検査のための国内参照品を作製し、共同測定を実施し、国内参照品を値付けし、試験法の標準化を可能とした。

2. 実施内容

1) SARS-CoV-2 に対する高感度核酸検査法の開発

2019 年末から中国の武漢で SARS-CoV-2 の大規模なアウトブレイクが発生し、2020 年には日本のみならず他の多くの国々に瞬く間に感染が拡大し世界的な大流行(パンデミック)となっている。WHO は 2020 年 1 月末には国際的に懸念される公衆衛生上の緊急事態を宣言した。SARS-CoV-2 は気道から侵入し肺炎を引き起こすが、一部の患者の血液からも核酸検査(PCR)によりウイルス RNA が検出されることが報告された。無症候性感染者

(不顕性感染)も存在するが、血液中にウイルス(RNA)が存在するケースがあるかは不明であったため、無症候性感染者からの献血を想定し、その血液にウイルスが存在するリスクに至急備える必要があった。開発開始時点での国内の SARS-CoV-2 に対する核酸検査(定量 PCR)は、口腔スワブ等を対象としており(合成 RNA を用いた感度は約 50 コピー/reaction)、血液を用いた検出感度は不明であった。そこで、献血血液に微量に混入したウイルスを検出可能な高感度核酸検査系を別途開発し準備することを目的とした。

研究方法および結果

高感度 primer スクリーニング: SARS-CoV-2 (NC_045512 Wuhan-Hu-1)の約 30Kb の核酸配列に対して、Primer 設計ソフトで網羅的に Forward および Reverse primer を 299 セット設計した。武漢帰国便の陽性者から分離された LC521975 株 (2019-nCoV/JPN/AI/I-004/2020)の培養上清から精製したウイルス RNA を鋳型にして、SYBR Green 系の RT-qPCR キットにて 299 セットの RT-qPCR の増幅効率を検討した。RT-qPCR の Ct 値を基にして評価し、極めて増幅効率の良かった 62 セットを高感度候補として選出した。

高感度 probe スクリーニング:次に、選出した primer セットの PCR 増幅領域に TaqMan MGB probe を設計し、24 セットの primer-probe について TaqMan RT-PCR キットにて、ウイルス RNA を鋳型にして増幅効率を評価した。その結果、11 セットについては、極めて増幅効率が良く、これらの primer-probe セットを SARS-CoV-2 高感度核酸検査法の候補とした(図 1)。11 セットの内、NCBI 登録株約 4,000 株に対して相同性を評価し、登録株と 100%一致する率が 99%以上の primer-probe を、変異によるミスマッチの生じにくい高感度 primer-probe として 3 セット選出した(S2-A, B, C)。これら 3 セットに関し、RT-qPCR における増幅効率を確認した結果、それぞれ 100 コピー/ well で 37.8, 36.7, 35.7 サイクルであった(Table.1)。

2) 臨床血液検体を用いた高感度核酸検査体制の構築と実施

COVID-19 の治療法開発のため、国立国際医療研究センター(NCGM)が中心となり、日本赤十字社、国立感染症研究所が協力する形で、COVID-19 回復者血漿療法の臨床研究がスタートした。また、同様に慶應義塾大学においても同様のプロジェクトがスタートした。その中で国立感染症研究所では、本事業において NCGM の回復者血漿の適合者のスクリーニングおよび血漿採取時の SARS-CoV-2 に対する安全性確認のため、採血した血漿に対して、高感度 SARS-CoV-2 核酸検査を実施した。

研究方法および結果

開始した当時は、WHO 国際標準品が存在しなかったため、暫定的に SARS-CoV-2 が

100 コピー/mL で血液に混入した場合においても、確実に検出できるような核酸検出の感度を目指した。そこで、SARS-CoV-2 に対する核酸検査法の CDC_N2 および NIID_N2 法について、合成 RNA を使った検出感度を暫定的に評価したところ、約 30 コピー/reaction であったことから、100 コピー/mL のウイルス液から 30 コピー以上のウイルス RNA を PCR1well 中に持ち込める方法でセットアップすることとした。そこで、RNA 抽出効率を仮に 100%とした場合に条件を計算したところ、全自動核酸抽出機 QIAAsymphony の 2mL 抽出プロトコルで核酸抽出、90 μ L で核酸溶出、qPCR に抽出液を 25 μ L 添加(60 μ L 反応系)したとき、100 コピー/mL のウイルス液から 55 コピーのウイルス RNA を PCR 1well 中に持ち込める計算となることから、この条件で検査を実施した。

回復者血漿の SARS-CoV-2 に対する安全性確認のための核酸検査

設定した核酸抽出・検出条件下で 2020 年 9 月末までに CDC_N2 および NIID_N2 法にて NCGM の回復者血漿のスクリーニング検体 210 件、採取した回復者血漿 69 件について、全 55 回の SARS-CoV-2 の核酸検査を実施した。その結果、全ての検体から、SARS-CoV-2 の RNA は検出されなかった。

3) COVID-19 核酸検査のための国内参照品の作製と値付け

SARS-CoV-2 に関しては、抽出効率を反映させた生ウイルス由来の核酸検査用標準品は日本にはなく、一般に、国際標準品も現在のところ入手が困難であることから、核酸検査用に使用できる国内参照品候補品2種類を10施設で測定し、値付けを実施した。また国際標準品の入手が可能であった日本赤十字社と国立感染症研究所の2施設のデータを元に、国内参照品に対して国際単位 IU/mL の表示値を付与した。

研究方法および結果

血液用 (NIID_001/2020) および一般用 (NIID_002/2020) の参照品候補品として、武漢由来の SARS-CoV-2 である JPN/ty/wk-521 を 60°C 60 分の加熱により不活化し、感染性がないことを確認した上で、それぞれ血漿ベースマトリックス、ユニバーサルバッファーで希釈したものを 1,000 本ずつ作製した。臨床検査薬協会の協力を得て、臨床検査薬会社を含む 10 施設で値付けを実施した。定性法ではエンドポイント法で力価を算出し、定量法では各参加施設の定量 PCR の定量値を用いて算出し、双方の値を考慮して算出した値を値付け値とした。相対評価での力価算出の際は、平行線定量法により算出した。一般用 (NIID_002/2020) を国内参照品とし、その力価を 6.92 log₁₀ Units/mL (7.08 log₁₀ IU/mL)、また国内参照品に対する相対力価として血液用 (NIID_001/2020) の力価を 6.73 log₁₀ Units/mL (6.88 log₁₀ IU/mL)とした。

4) 海外における血液安全に関する情報の収集および交換

WHO の血液安全に関するカンファレンスに定期的に参加するとともに、各国の血液事業に携わるネットワーク会議（Blood Regulators Network）に加盟し活動することにより、感染症リスクの早期察知および評価に基づく安全対策の検討を行った。また、国立感染症研究所の病原体関連部署と連携し、情報の収集や交換を行った。

3. 考察と課題

1) SARS-CoV-2 に対する高感度核酸検査法の開発

SARS-CoV-2 は RNA ウイルスの特徴として、当初より変異が多く導入されることが明らかであったため、変異対策として複数の高感度 primer-probe を multiplex 化して、多くの変異株を包括的に検出できる核酸検出系が望まれる。

2) 臨床血液検体を用いた高感度核酸検査体制の構築と実施

回復者血漿を用いた治療法の開発は慶應義塾大学においても開始されており、NCGM と同じ方法を用いて、検査協力を開始した。現在までにスクリーニング検体 20 件、および採取した CP2件について、全 6 回の SARS-CoV-2 の核酸検査を実施している。

3) COVID-19 核酸検査のための国内参照品の作製と値付け

国内参照品 NIID_002/2020 と血液用 NIID_001/2020 は依頼があれば国立感染症研究所から交付可能であり、本参照品の整備により、国内で実施される新型コロナウイルスの核酸検査において、感度評価、試験法キャリブレーション、試験法ハーモナイゼーション等に使用できると考えられ、また IU/mL 表示された力価が与えられたことにより、世界各国の核酸検査とも評価・比較が可能となると考えられる。

4) 新型コロナウイルス感染症対策として

2019 年末より、新たなリスクとして新型コロナウイルス感染症(COVID-19)が報告され、重症化する患者におけるウイルス RNA 血症 (RNAemia) が報告されたほか、血液のドナーからも確率は低いですが、新型コロナウイルス RNA が検出されたという報告もあった。その後の他施設での献血センターにおける大規模調査が実施され、RNAemia の頻度は極めて少ないことも明らかになりつつある。その一方で、ワクチンエスケープを含めた様々な変異株が出現しており、引き続き、病原性の変化による血中移行の可能性も含めて注視が必要であると考えられる。また変異株の流行により、現状の検査系では感度の低下等も懸念されうるので、WHO が定める「懸念される変異株(Variants of Concern; VOC)」や「注目すべき変異株 (Variants of Interest; VOI)」などに関しては高感度 multiplex PCR 検出法の開発とともに、参照品として準備しておくことも重要であると考えられる。

4. 結論

本事業では、血液を介して感染し得る病原体に関する情報を継続して収集し、日本にリスクのある病原体については高感度核酸検査法を開発して小規模モニタリングを継続しており、我が国への感染症リスクの早期察知およびアウトブレイクに備えた体制整備に貢献している。

令和 2 年度は、新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)の高感度核酸検査法を開発し、臨床血液検体を用いて高感度核酸検査を実施し、結果を病院等へ提供した。また、COVID-19 核酸検査のために国内参照品を作製し、共同測定を実施した上で、国内参照品を値付けしたので、今後、核酸検査に関しては、標準化が可能となり、信頼性が向上した。今後も血液を介して感染する新たな病原体等について常に注視・情報収集し、血液の安全性確保のために適宜対応していくことが必要である。

5. 令和3年度の実施予定内容

1. SARS-CoV-2 変異対策としての高感度 multiplex RT-PCR 法の構築
2. 血液関連ウイルス、類似コロナウイルスを用いた高感度 multiplex RT-PCR 法の検証
3. 高感度 multiplex RT-PCR 法による臨床血液検体を用いた核酸検査の実施
4. SARS-CoV-2 変異対策としての変異株の参照品の作製と値付け
5. 海外における血液安全に関する情報の収集および交換

図 1. SARS-CoV-2 高感度核酸検査法の構築のスクリーニングの要約

Primer 設計	Primer 選定	Probe 合成	Probe 選定
299	62	24	11

Table 1. 各 Primer セットにおける Ct scores (cycles) 比較.

	Copies/well	Single-plex
S2-A	1000	34.2
	100	37.8
S2-B	1000	33.3
	100	36.7
S2-C	1000	32.3
	100	35.7

Ct, cycle threshold

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・ダイアグノスティックス株式会社)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・ダイアグノスティックス株式会社

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

日本赤十字社における ヘモビジランス2020



日本赤十字社
Japanese Red Cross Society

令和3年10月26日(火)
薬事・食品衛生審議会
血液事業部会安全技術調査会

本日のお話

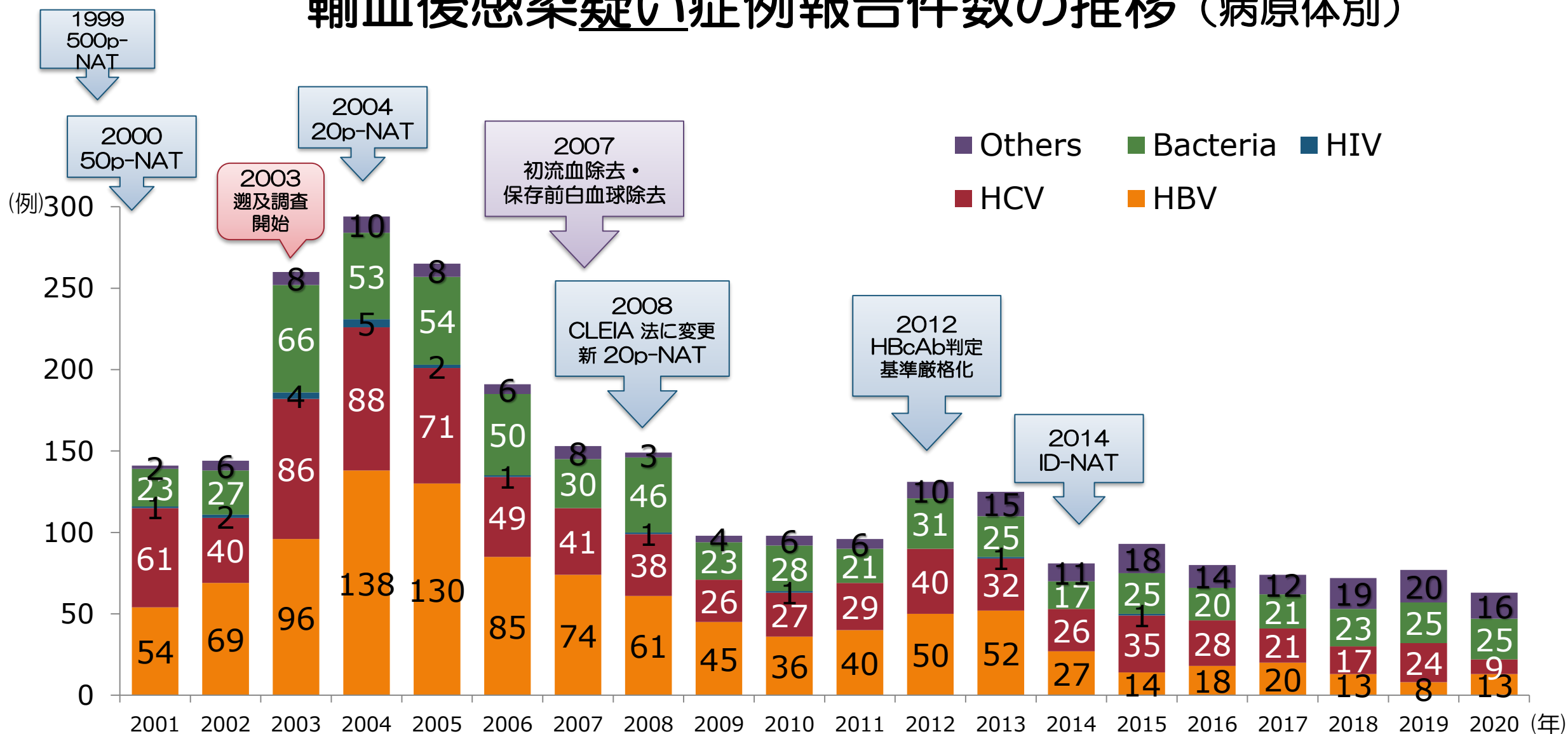
■ 輸血感染症

- 病原体別報告件数の推移
- 輸血後ウィルス感染症
- 輸血後細菌感染症

■ 輸血副作用

- 非溶血性副作用
- TRALIとTACO
- 溶血性副作用

輸血後感染疑い症例報告件数の推移（病原体別）



病原体別解析結果（2020）

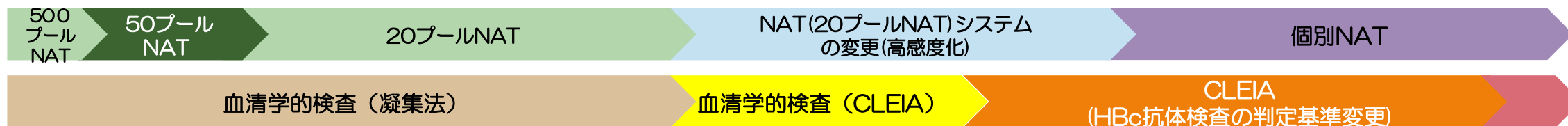
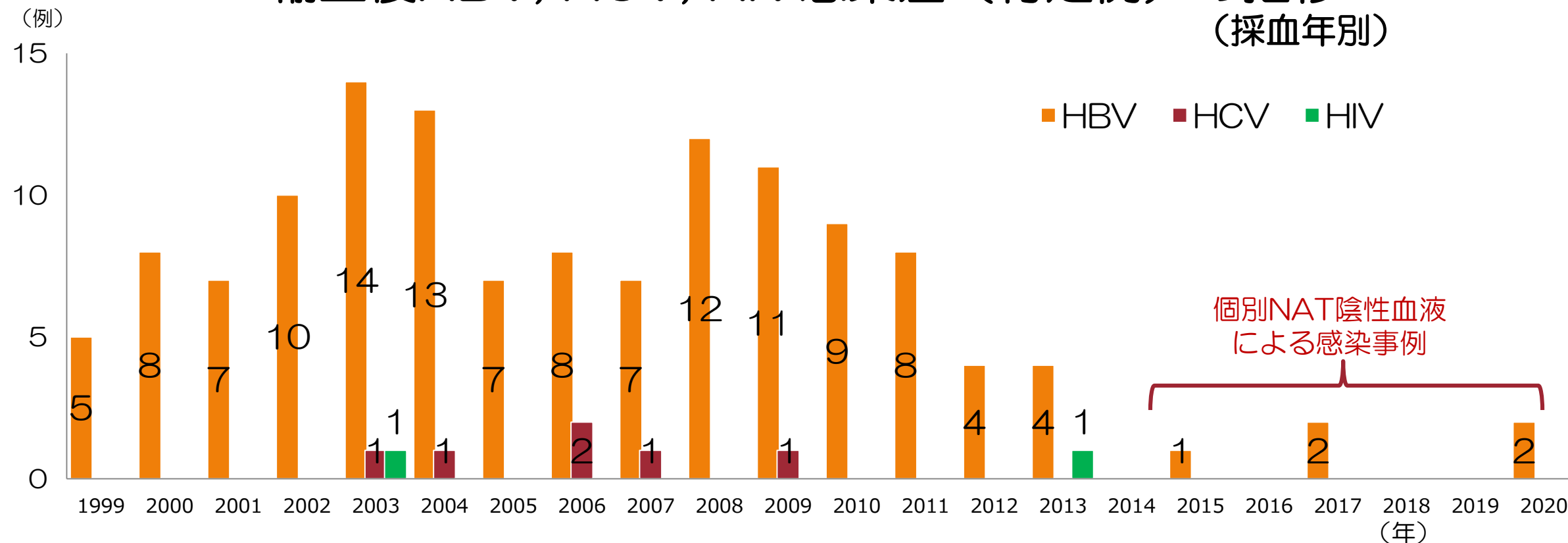
病原体	報告件数	特定	対象外	
			輸血前 から陽性	輸血前後 陰性
HBV	13	2	1	0
HCV	9	0	0	0
細菌	25	2	0	0
CMV	3	0	1*	0
HEV	11	6	0	0
Parvo B19	1	0	0	0
HTLV-1	1	0	0	0
計	63	10	2	0

*母乳からの感染にて因果関係なしと判断

輸血後感染症

輸血後ウイルス感染症

輸血後HBV, HCV, HIV感染症（特定例）の推移 （採血年別）

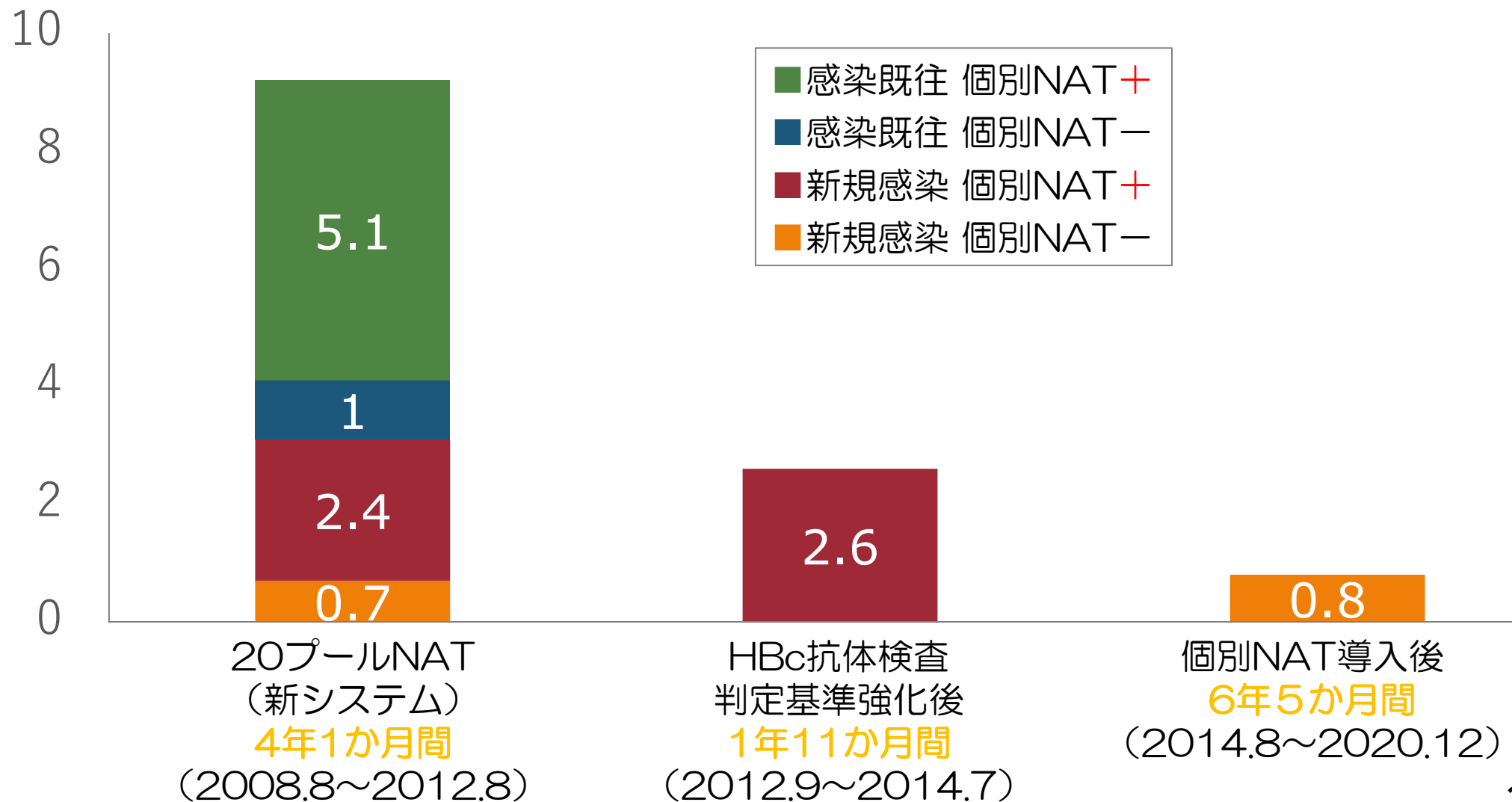


血清学的検査法(CLIA)

HBV感染の原因となった献血者の感染状態

(件)

1年あたりの症例数



遡及調査（個別NAT時代）

医療機関発



輸血された患者
（受血者）
の陽転情報

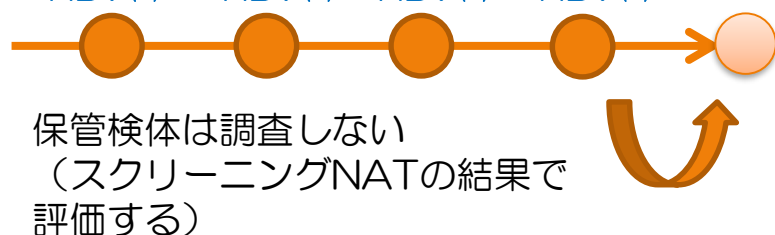


ウィンドウ・ピリオドを超えた次回献血/事後検査依頼の検査結果で当該血液の感染リスクを評価し、リスクに応じて供給先医療機関へ情報提供する

輸血用血液の献血者の
過去の検査結果

ID-NAT ID-NAT ID-NAT ID-NAT
HBV(-) HBV(-) HBV(-) HBV(-)

（輸血した血液）



供血者発

複数回献血者の
陽転情報

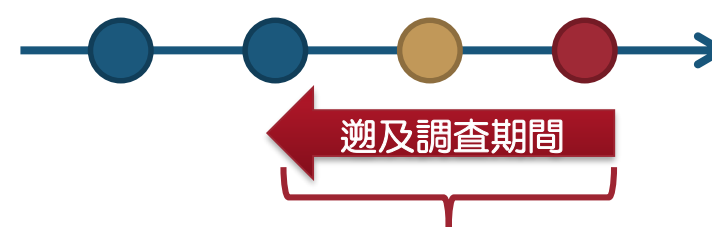
献血者



陽転したマーカーの種類に応じて感染リスクを判断し、遡及調査期間内の献血について遡及調査を実施する

過去の献血時の検査結果

ID-NAT ID-NAT ID-NAT ID-NAT
HBV(-) HBV(-) HBV(-) HBV(+)

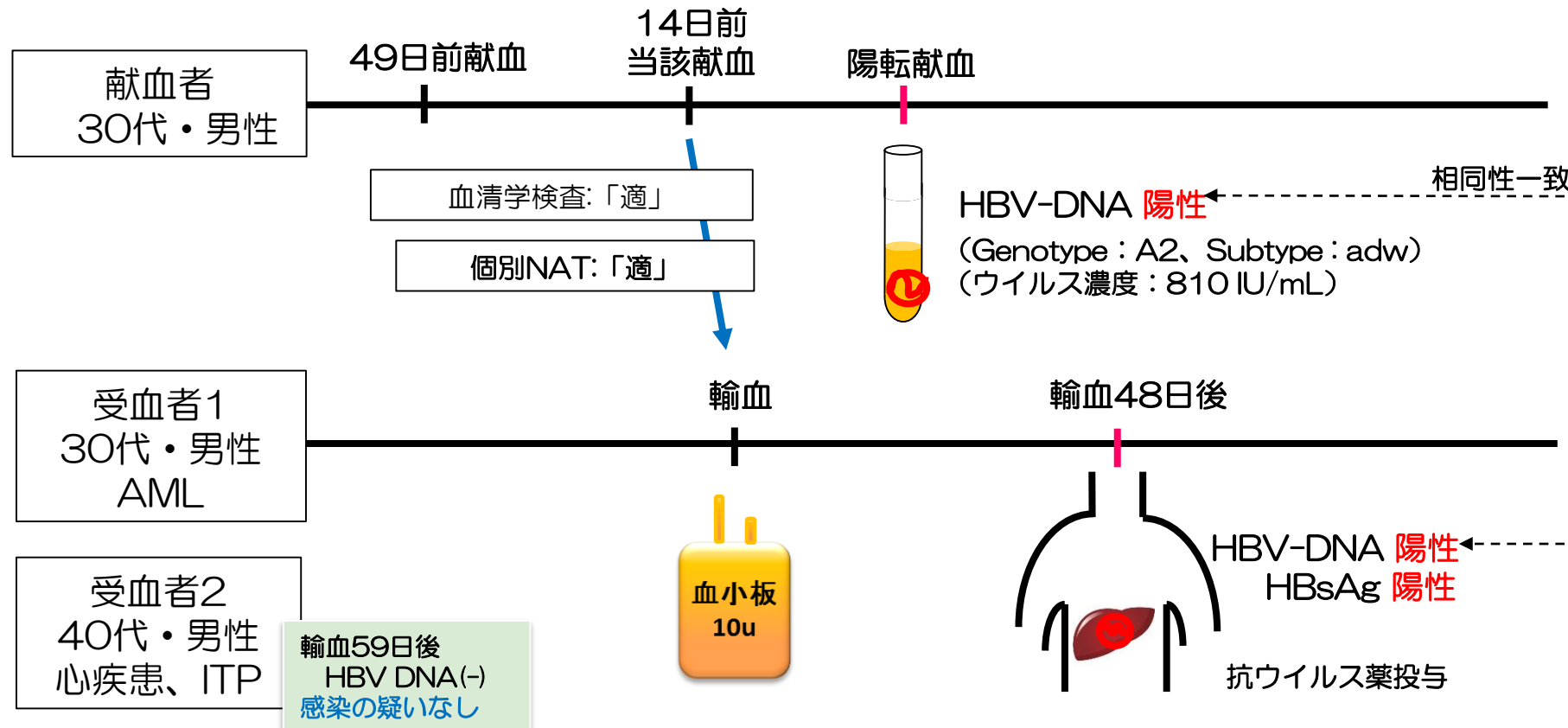


遡及調査期間内の献血
による製剤が調査対象

輸血後HBV感染症例(2020-1)

献血者のスクリーニングNAT陽転に伴う遡及調査により、判明した症例

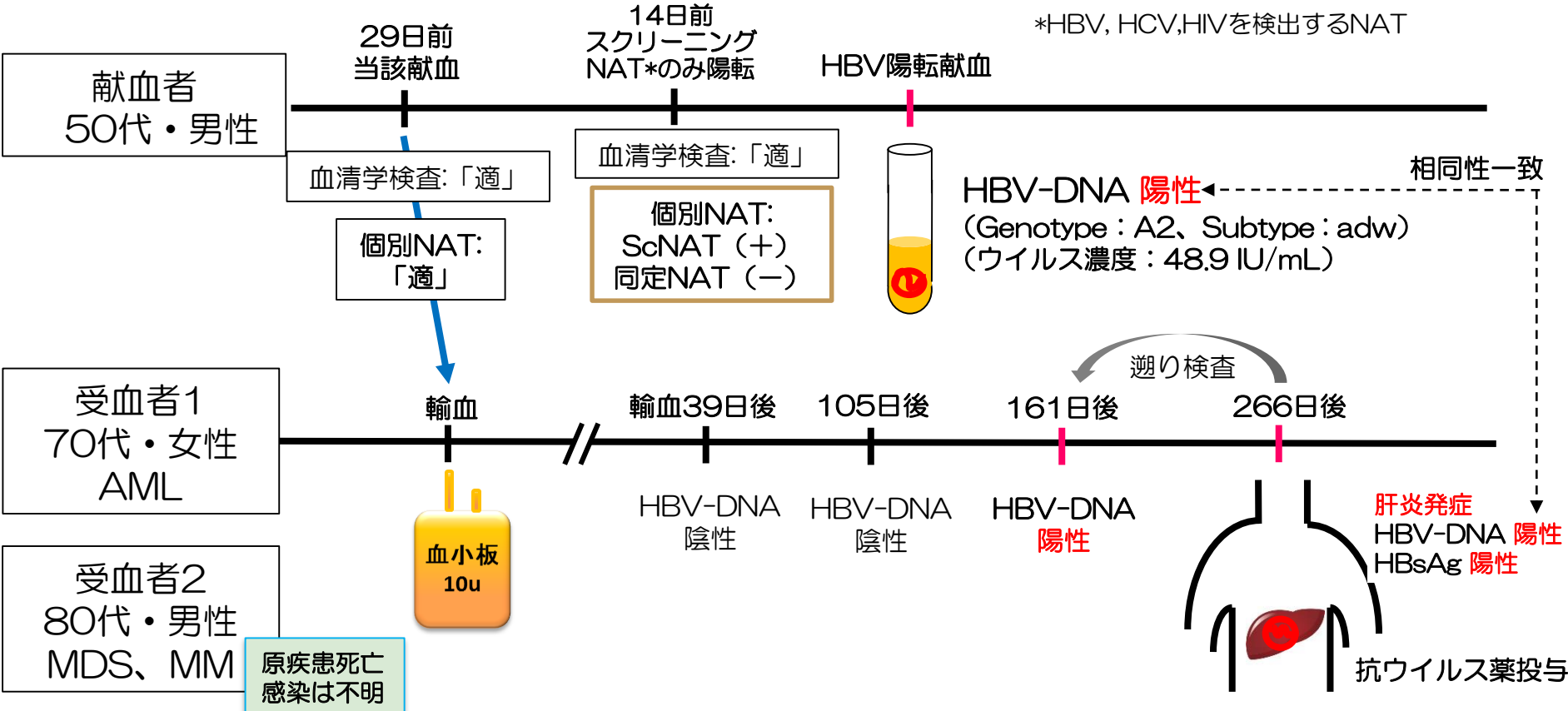
	採血日	ID-NAT	HBsAg	HBcAb	HBsAb	ALT	ウイルス濃度
陽転献血	-	+	-	-	-	30	810 IU/mL
当該献血	14日前	-	-	-	-	33	NT



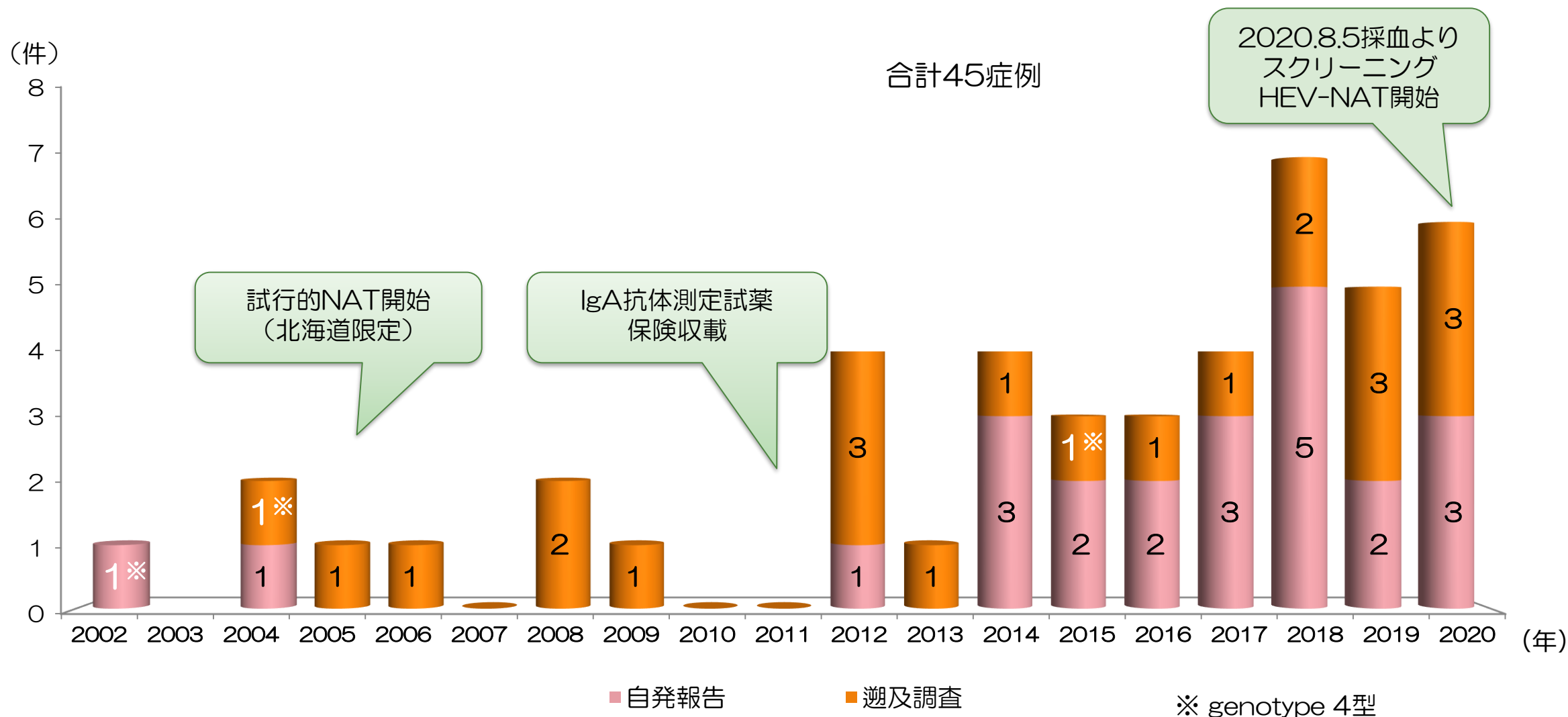
輸血後HBV感染症例(2020-2)

献血者のスクリーニングNAT陽転に伴う遡及調査により、判明した症例

	採血日	ID-NAT	HBsAg	HBcAb	HBsAb	ALT	ウイルス濃度
陽転献血 (HBV)	-	HBV+	-	-	-	22	48.9 IU/mL
陽転献血 (MPX)	14日前	MPX+ (同定-)	-	-	-	14	NT
当該献血	29日前	-	-	-	-	19	NT



輸血後HEV感染症例の推移



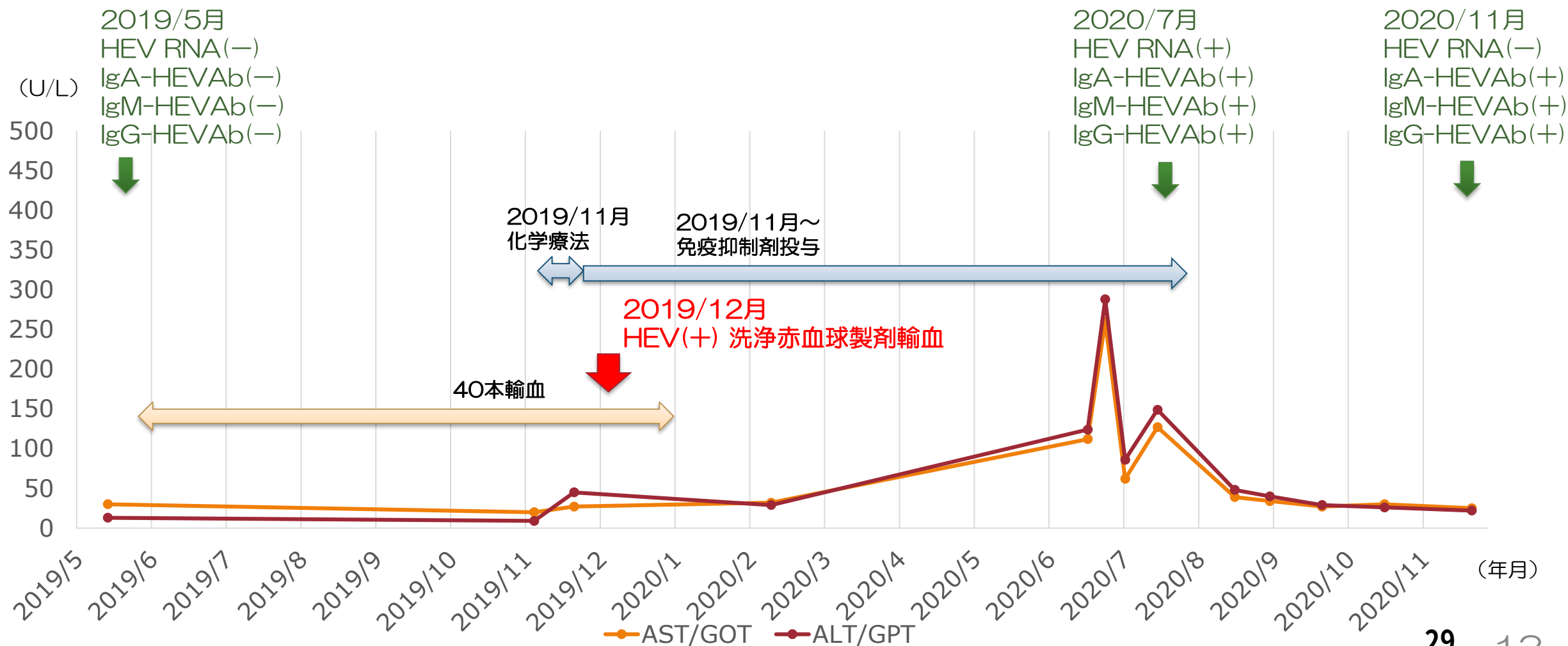
スクリーニングHEV-NAT導入後の製剤においてHEV感染症例は認めていない。

輸血後HEV感染症例（2020）

		患 者				輸血用血液			
		原疾患等		処置等		転帰	ウイルス量 (IU/mL)	原因 製剤	Gt
自 発 報 告	1	60代 男性	再生不良性貧血	輸血42日後RNA（＋） ALT最高値2650（42日後） 安静のみで肝機能改善		軽快	1.77E+05	PC	3
	2	70代 男性	大動脈弁狭窄症・閉鎖不 全	輸血55日後RNA（＋） ALT最高値455（58日後）		軽快	8.92E+03	FFP	3
	3	60代 女性	続発性骨髄繊維症	輸血206日後IgA抗体（＋） ALT最高値288（206日後） ネオファージェン投与		軽快	3.55E+05	WRC	3
遡 及 調 査	4	女性	出血性直腸潰瘍 中枢神経系血管炎	輸血262日後IgM、IgG抗体（＋） ALT最高値355（89日後）		回復	3.94E+04	RBC	3
	5	50代 女性	節外性NK・ T細胞性リンパ腫	輸血27日後RNA（＋） ALT最高値66（17日後）		軽快	9.49E+03	PC	3
	6	20代 男性	急性リンパ性白血病	輸血40日後RNA、IgG抗体（＋） ALT最高値275（42日後）		回復	ND	PC	3 28

HEV症例-3

患者：60代女性、続発性骨髓繊維症



HEV-NAT導入後の遡及調査

- 令和2年8月5日採血分よりHEV-NAT開始
- 遡及期間は6カ月のため対象は令和3年2月3日採血分まで

スクリーニング数	2,562,309件
HEV陽性献血数（陽性率）	1,412件（0.055%）
遡及対象献血者数（6カ月以内に献血履歴あり）	756人
遡及対象献血件数	2,163件
保管検体HEV-NAT陽性数	14件 （前回採血12件、前々回採血2件）

製剤は20本（**RBC 1本、PC 5本**、FFP 1本、原料血漿 13本）
医療機関へ供給→受血者の調査実施

6本すべて使用済み

- ✓ 2例は輸血前後ともHEV関連検査すべて陰性
- ✓ 1例は輸血前後ともHEV-IgGが陽性
- ✓ 1例は輸血後1回のみHEV RNAのみ陽性となり、その後陰性、肝機能正常
- ✓ 1例は原疾患で死亡（輸血後の検体はHEV RNA陰性）
- ✓ 1例は原疾患で死亡（検体なし）（RBC）

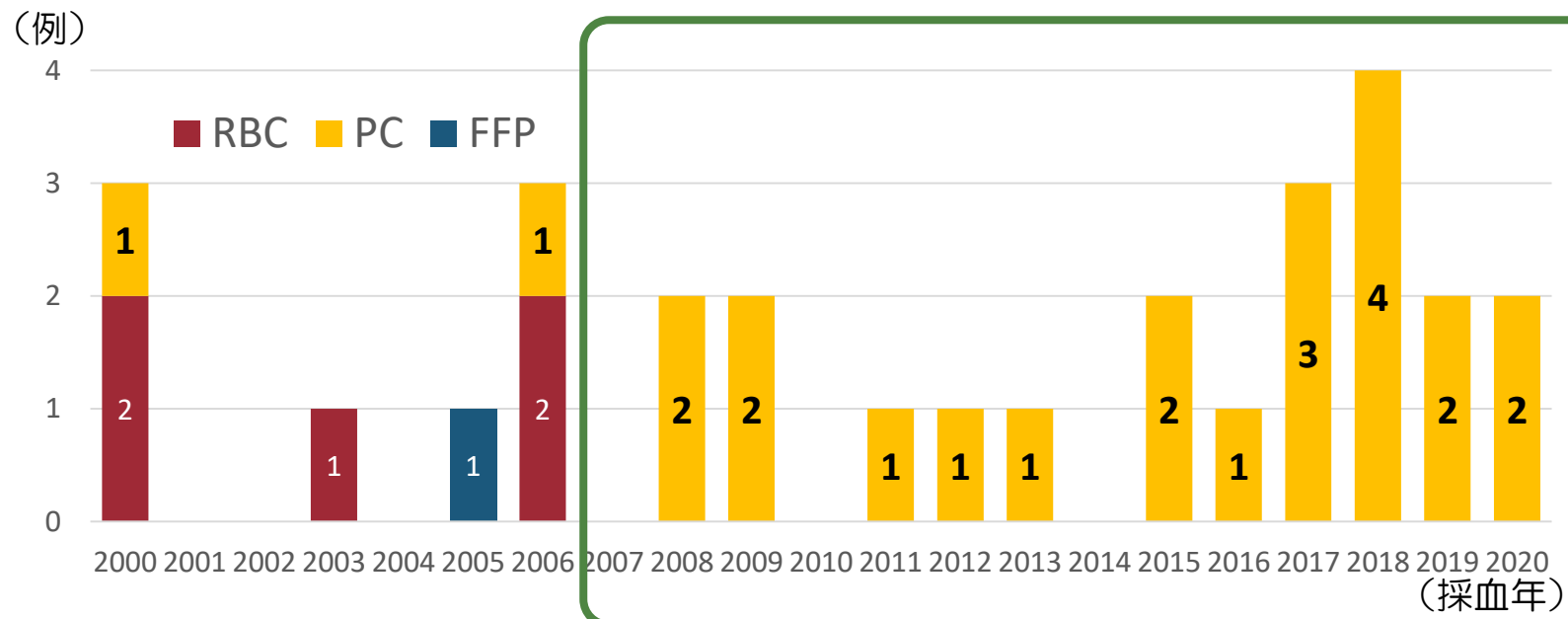
ウイルス感染症まとめ

- 輸血によるHBV、HCVまたはHIV感染リスクは大幅に減少した。複数回献血者の陽転情報に基づく遡及調査により判明する輸血によるHBV感染がリスクとして残っている。
- 医療機関から輸血後ウイルスマーカーが陽転したという情報については、輸血前検体の検査により感染既往であったことが判明する例が多い。
- 輸血によるHEV感染症は発生しており、免疫抑制状態の患者では症状が遷延することがある。
- 2020年8月5日採血分よりHEVスクリーニングを導入した。遡及調査の結果、HEV NAT陽性の血液が6名の受血者に輸血されたが、明らかにE型肝炎を発症した事例は認められなかった。 31

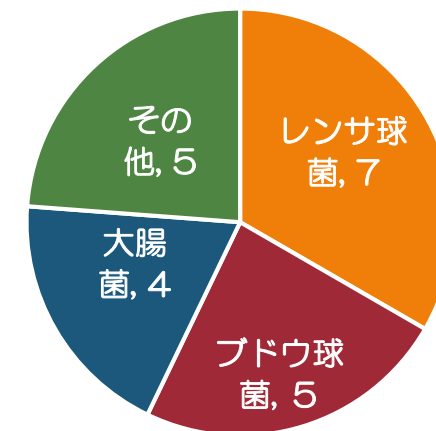
輸血後感染症

輸血後細菌感染症

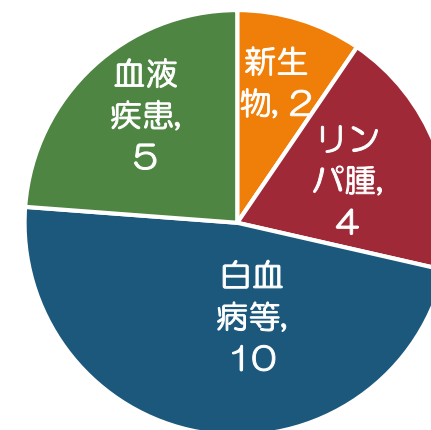
輸血後細菌感染症（特定例）と安全対策の推移



特定例において製剤から
検出された菌種



特定例の患者の原疾患



皮膚消毒

アルコール綿＋ポビドンヨードによる皮膚消毒

有効期間

採血から72時間

採血日を含め4日間

細菌混入対策

初流血除去・保存前白血球除去

輸血後細菌感染症例（2020）

	患 者			血小板製剤	
	原疾患等	症 状	転帰	検出菌	日数
1	80代 女性	MDS 輸血開始（体温 36.1℃）。 2時間35分後、輸血終了（体温 37.3℃）。帰宅。 帰宅後、発熱、悪寒、戦慄あり。 輸血開始4時間20分後、再来院。発熱（40.1℃）、血圧低下あり。 メロペネム、バンコマイシン、ファンガード投与。血液培養実施 （ <i>E.faecium</i> 検出）	軽快	<i>E.faecium</i>	4
2	40代 女性	ALL 朝、セフェピム投与。 輸血開始約15分後、悪寒・戦慄あり。その後、嘔吐、水様便あり。 血圧低下、酸素飽和度低下あり。酸素投与、アドレナリン投与。 血液培養実施。体温 40℃ 抗生剤をメロペネムへ変更。 翌日、血液培養よりGNRを検出（ <i>E.coli</i> 同定）	回復 （後遺症 あり）	<i>E.coli</i>	4


 いずれも、患者から検出された菌と血小板製剤のバッグ残渣から検出した菌の種類は一致し、パルスフィールドゲル電気泳動にて差異は認められず、輸血による感染と特定された。

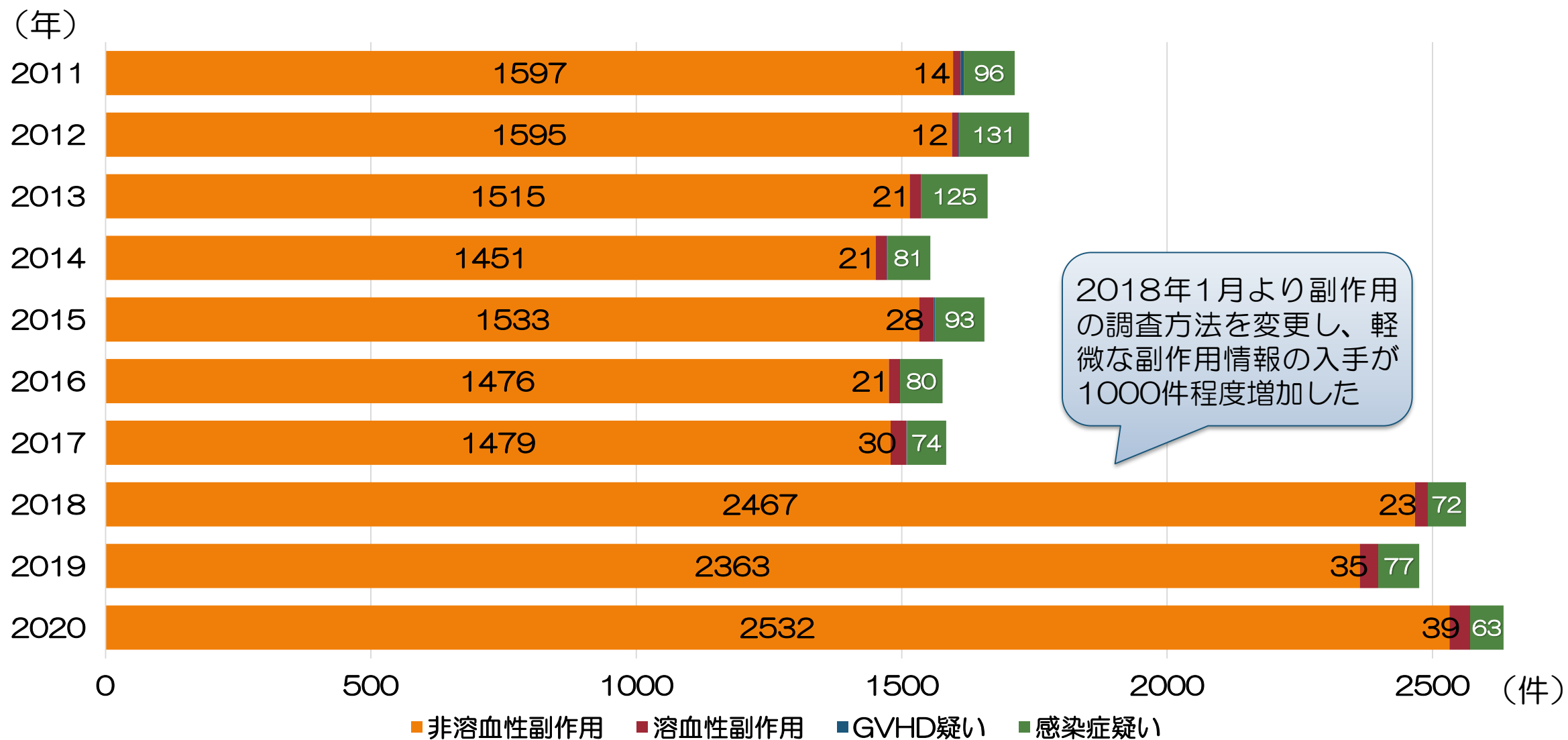
輸血による細菌感染症まとめ

- 輸血による細菌感染は非常にまれではあるものの、発生した時には緊急対応が必要となることから、輸血後に悪寒、発熱等の副作用が観察された時は、症状の発現の状況や重篤度をよく観察し、十分な量の抗生剤を投与するなど、迅速に対応することが重要である。
- 血小板輸血において輸血セットの詰まりや流速低下が認められた場合は細菌混入リスクを考慮し、輸血を中止する。
- 輸血による細菌感染が特定された事例はすべて血小板製剤である。日本赤十字社では採血後はなるべく早く血小板製剤を供給し、医療機関で使用いただくようお願いしている。また、さらなる安全対策として細菌スクリーニングの導入に向けて検討を進めている。

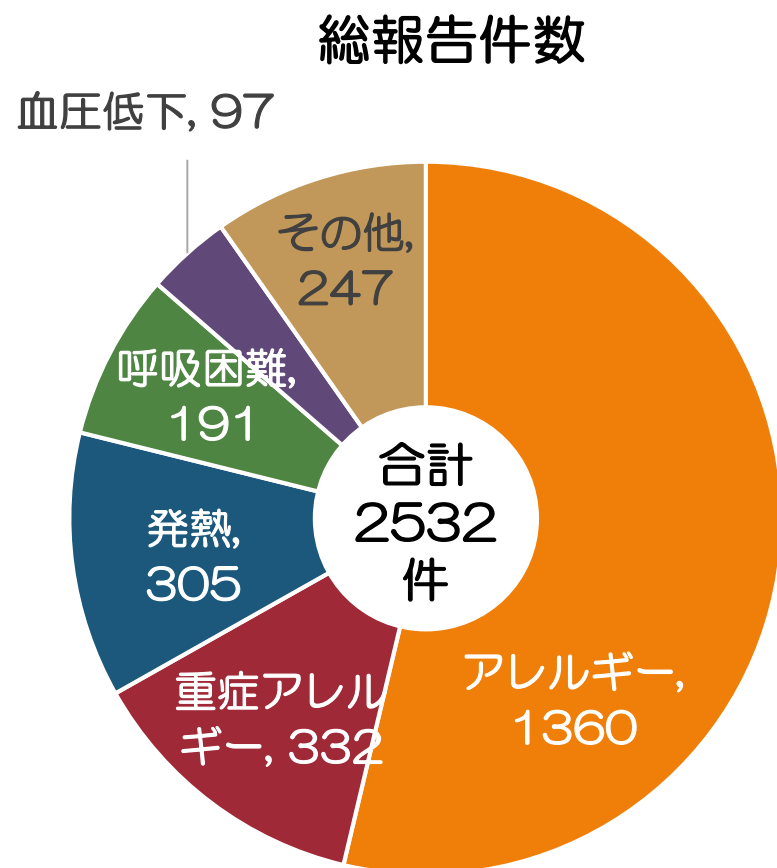
輸血副作用

非溶血性副作用

副作用・感染症報告の推移

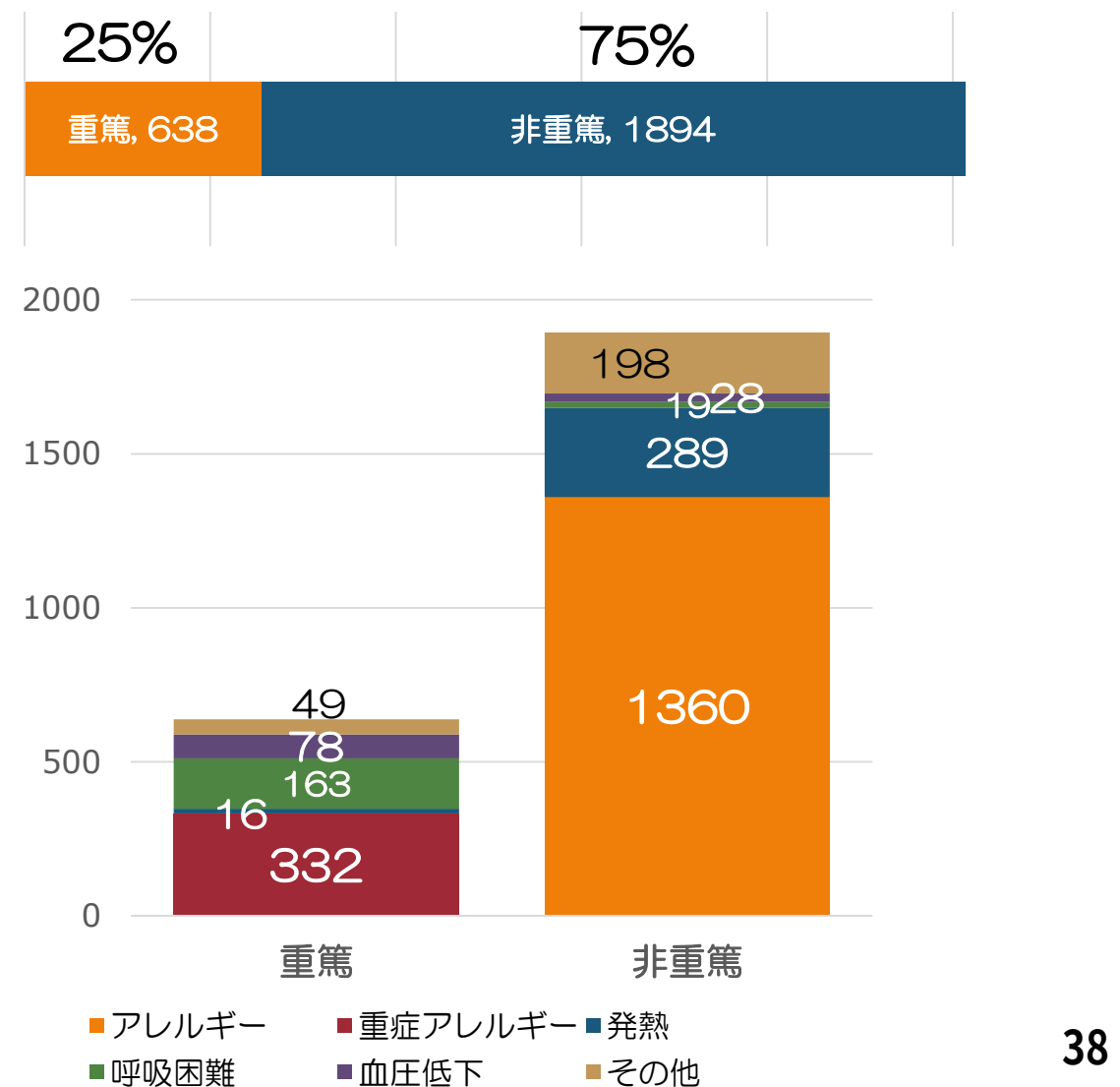


非溶血性副作用の分類別報告件数 (2020年)

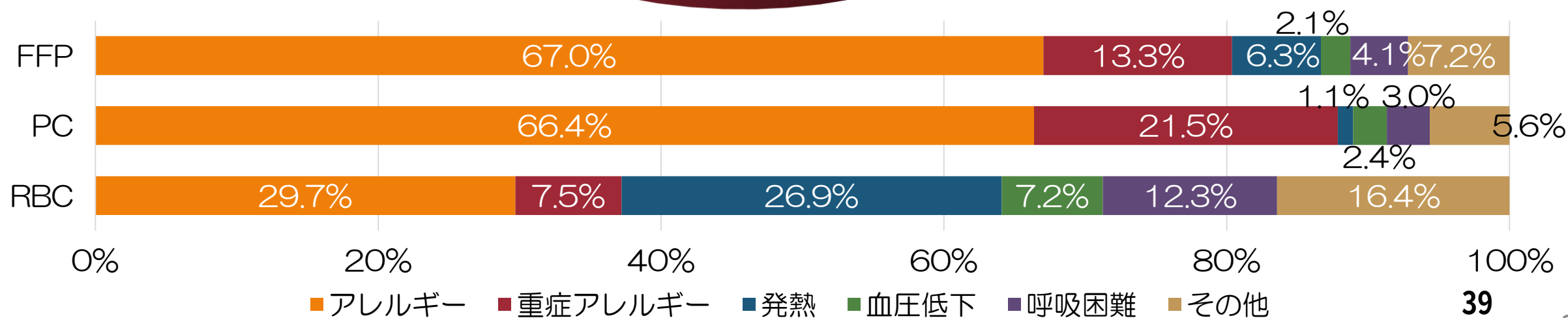
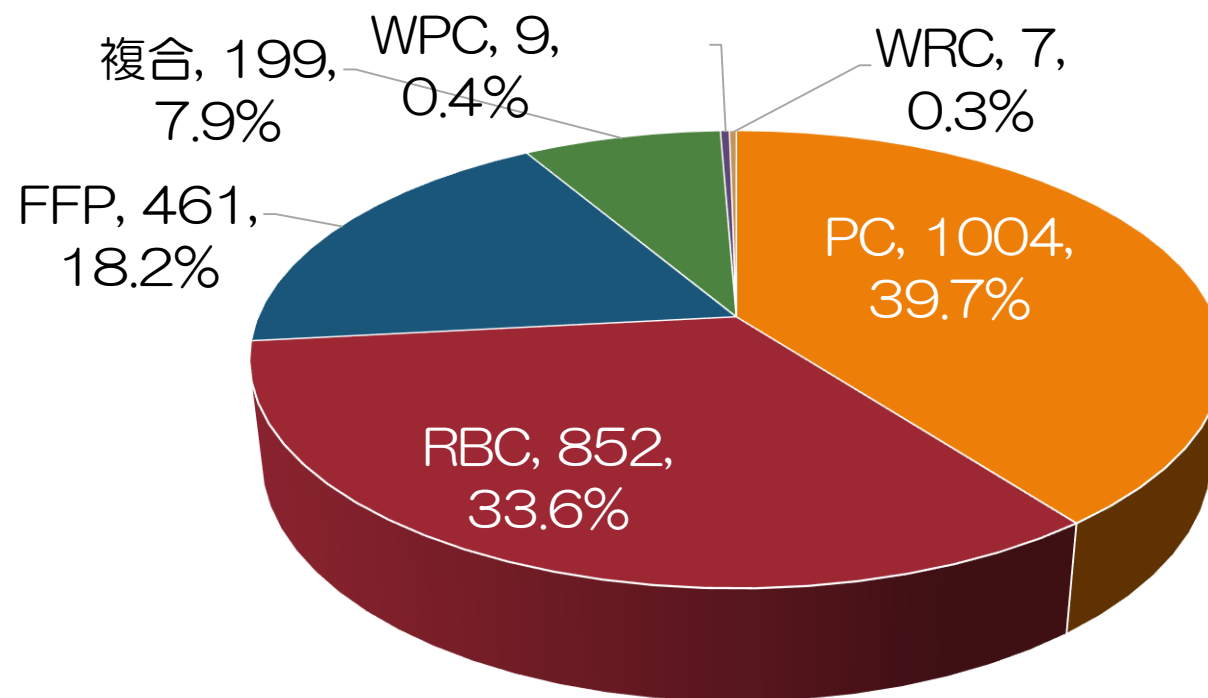


注) 呼吸困難にはTRALI、TACOを含む

重篤度別報告件数



使用製剤割合と製剤別症例数(2020)



TRALI・TACO評価結果

2020年 非溶血性副作用報告件数：2532件 TRALI・TACO評価件数：147件 (5.8%)

報告副作用名：TRALI疑い症例

報告副作用名：TACO疑い症例

TRALI疑い症例

呼吸困難、急性肺障害、呼吸不全、
酸素化低下 (SpO₂低下) アナフィラキシーショック等TRALI
評価

評価数：134

5

①TRALI

3

②p-TRALI

126

TRALIではないと
考えられる③心原性肺水腫
TACO疑いの重複

④その他

8件 (6.0%)

81

45

TACO疑い症例

13

81

TACO
評価

評価数：94

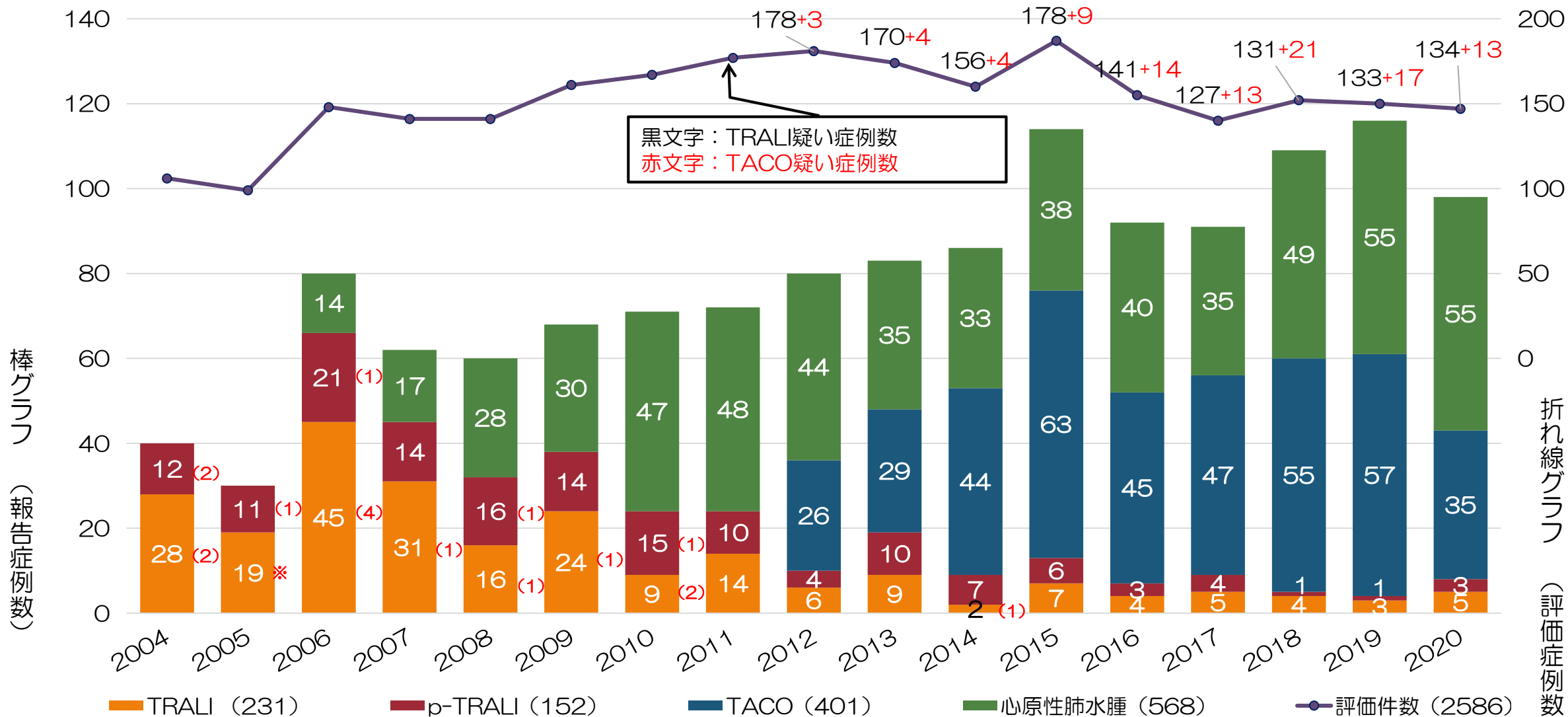
①TACO

32+3

②その他

49+10

TRALI・TACO評価状況 (2004-2020)



※ 一人の患者で2回発症 (2005年)

() は死亡例 (18例)

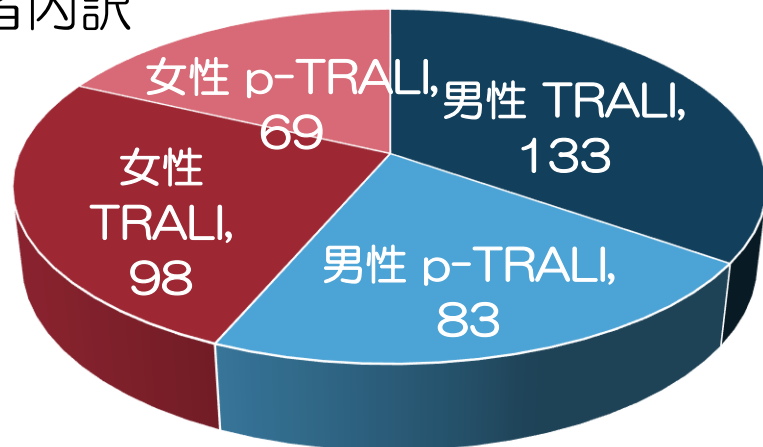
TRALI (p-TRALI含む) 症例の患者内訳と原因製剤 (2004-2020)

非溶血性副作用
報告件数 (解析数)
29,077件

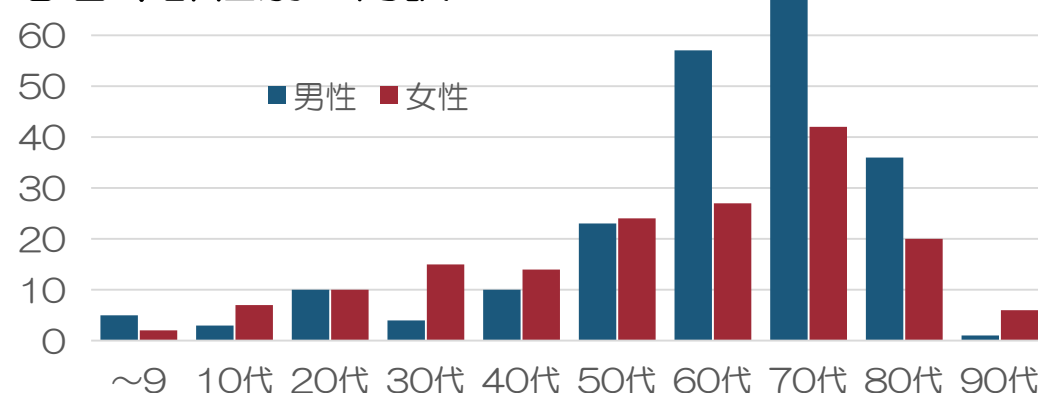
評価件数
2,586件
(8.9%)

TRALI件数
383件 (382名)
(14.8%)

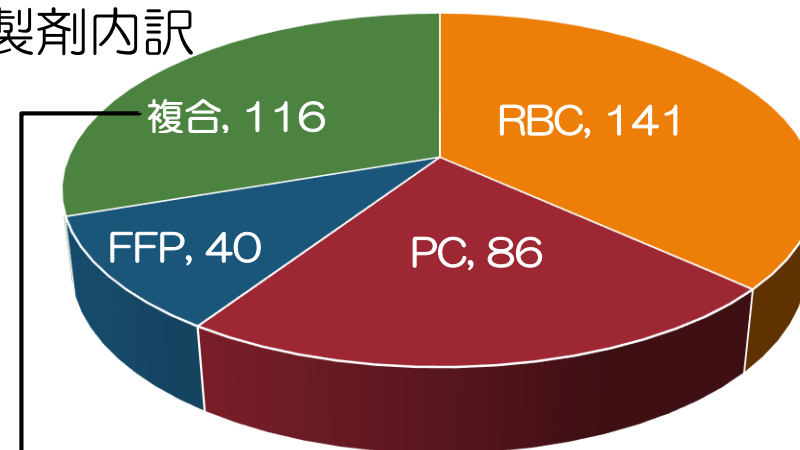
患者内訳



患者年齢性別の内訳



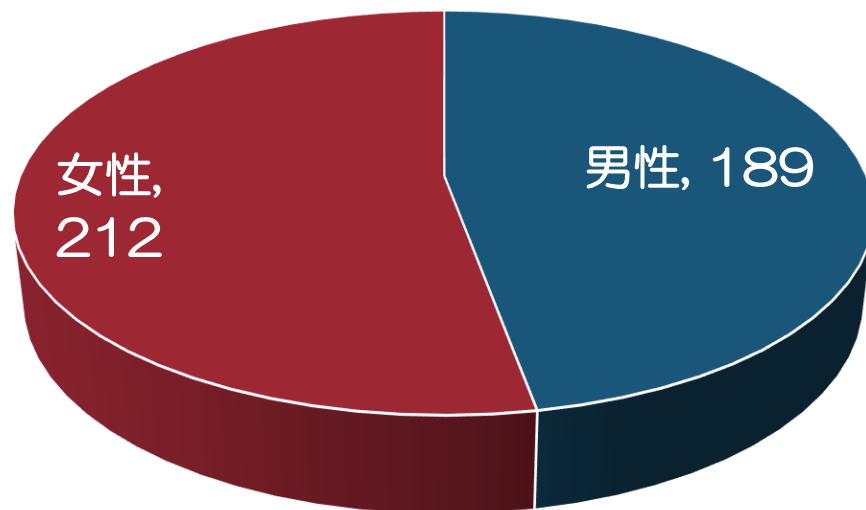
製剤内訳



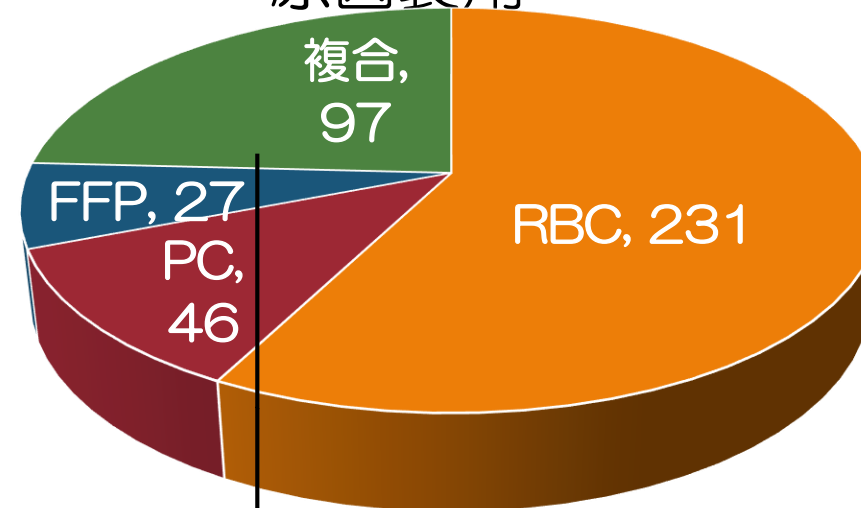
複合製剤等 内訳	TRALI	p-TRALI	計
	56	60	116
WB	1	0	1
RBC+PC	20	10	30
RBC+FFP	18	23	41
PC+FFP	4	3	7
RBC+PC+FFP	12	24	36
PC+LPRC	1	0	1

TACO症例の患者内訳と原因製剤 (2012.4-2020)

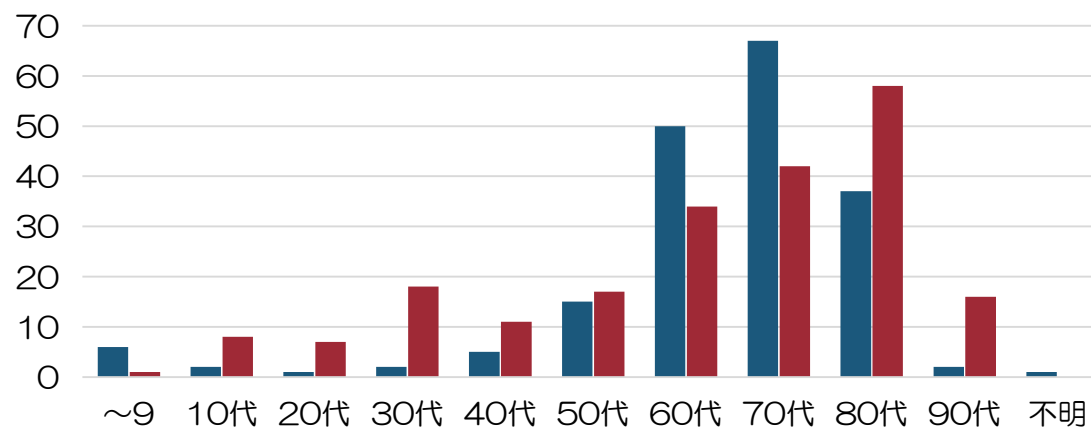
患者内訳



原因製剤



患者年齢分布



複合製剤内訳

複合製剤内訳	
RBC+PC	32
RBC+FFP	42
FFP+PC	8
RBC+PC+FFP	15
計	97

TRALI (p-TRALI含む) 症例の抗白血球抗体検査結果 (2004-2020)

TRALI件数
383件 (382名)
*一人の患者で2回発症

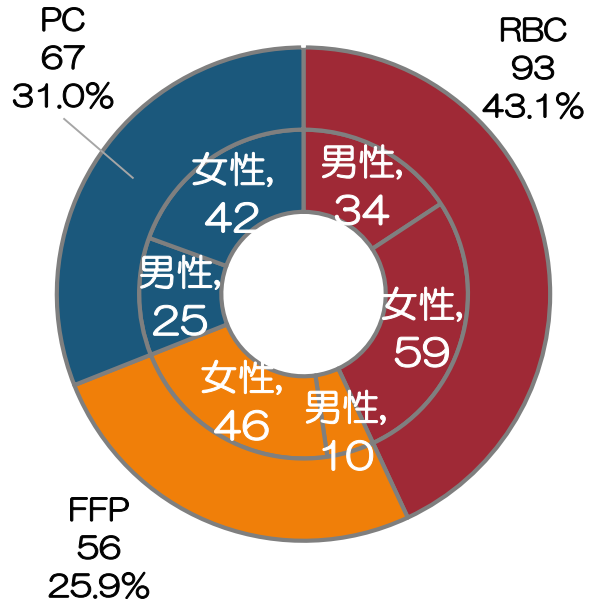
献血者
抗白血球抗体陽性
152件 (216名)
(40.0%)

抗白血球抗体陽性献血者の性別

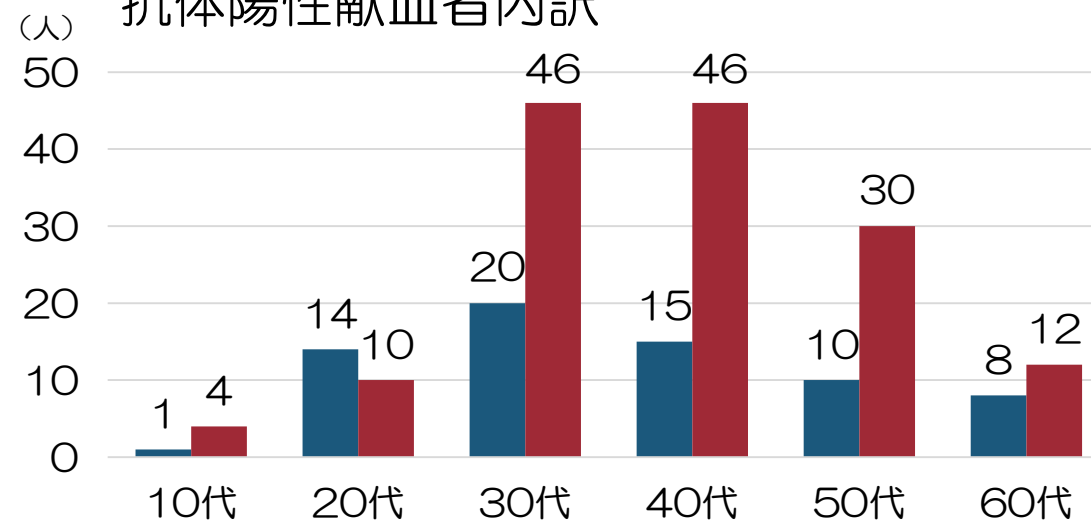


原因製剤

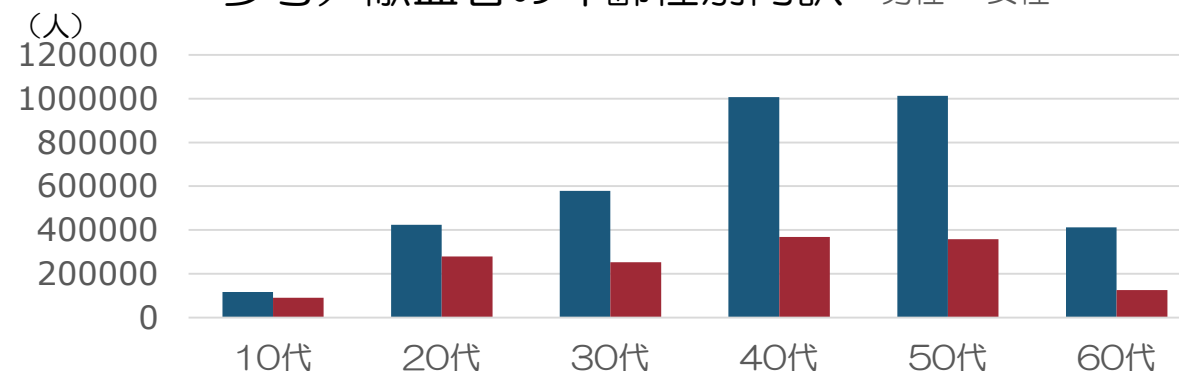
内側は献血者の性別



抗体陽性献血者内訳



参考) 献血者の年齢性別内訳



TRALI・TACO新たな評価基準（2021.4～）

これまでの評価基準

輸血関連急性肺障害（TRALI）の診断基準¹⁾

- a ALI（急性の肺障害）
 - ▷ 急激に発症
 - ▷ 低酸素血症
 - ▷ 胸部X線上両側肺野の浸潤影
 - ▷ 左房圧上昇(循環過負荷)の証拠がない
- b 輸血以前にALIがない
- c 輸血中もしくは輸血後6時間以内に発症
- d 時間的に関係のあるALIの他の危険因子がない

輸血関連循環過負荷(TACO)の評価基準

- a 急性呼吸不全
 - b 胸部X線上肺うっ血像を認める
 - c 輸血・輸液過負荷を認める
 - d 輸血中・後6時間以内に発症
- 【除外項目】
- 透析中の患者
 - 人工心肺使用中・後の患者
 - 補助体外循環装置使用患者
 - 現在治療している心不全
- 又は慢性呼吸不全がある患者

これらの基準に当てはまるものを
TRALIまたはTACOに分類

新たな評価基準²⁾³⁾

- a ALI（急性の肺障害）
 - ▷ 急激に発症
 - ▷ 低酸素血症
 - ▷ **画像**上明らかな両側肺野の浸潤影
 - ▷ 左房圧上昇の証拠がない
 - or 認めるが低酸素血症の原因ではない
 - ▶ 基礎疾患では説明できない心血管系の変化
 - ▶ 体液過剰
 - ▶ BNP(NT-proBNP)の基準範囲を超えかつ輸血前の1.5倍以上
- b 輸血中もしくは輸血後6時間以内に発症
- c 時間的に関係のあるARDSの他の危険因子なし
- d **輸血前12時間以内の呼吸状態**の安定

当てはまる項目のマトリクスで
TRALI・TACOなどに分類

- 1) Kleinman S, et al: Toward an understanding of transfusion-related acute lung injury: statement of a consensus panel. Transfusion, 44: 1774-1789, 2004.
- 2) Vlaar APJ, et al: A consensus redefinition of transfusion-related acute lung injury. Transfusion, 59: 2465-2476, 2019.
- 3) ISBT Working Party on Haemovigilance in collaboration with IHN and AABB. Transfusion-associated circulatory overload(TACO) Definition(2018).

新評価の指標

2021年4月情報入手分から

	急激に発症	低酸素血症	両側の浸潤影	左房圧上昇なし				6時間以内の発症	ARDSの危険因子	輸血前呼吸状態
					心血管系	体液過剰	BNP上昇			
TRALI Type I	○	○	○	○	×	×	×	○	なし	良好
TRALI Type II	○	○	○	○	×	×	×	○	あり	良好
TRALI/TACO	○	○	○	×	(○)	(○)	(○)	○	なしあり	良好
TACO	○	—	—	×	(○)	(○)	(○)	○	—	—
ARDS	—	○	○	○	×	×	×	—	あり	悪化
TAD	—	—	—	—	—	—	—	×	—	—

○：該当 (○)：一つ以上該当 ×：該当せず
(—：輸血との関連を評価するための項目)

ARDSの危険因子

肺炎
胃内容物の誤嚥
吸気障害
肺挫傷
肺血管炎
溺水
肺以外の敗血症
外傷
臍炎
重症熱傷
非心原性ショック
薬剤過剰投与

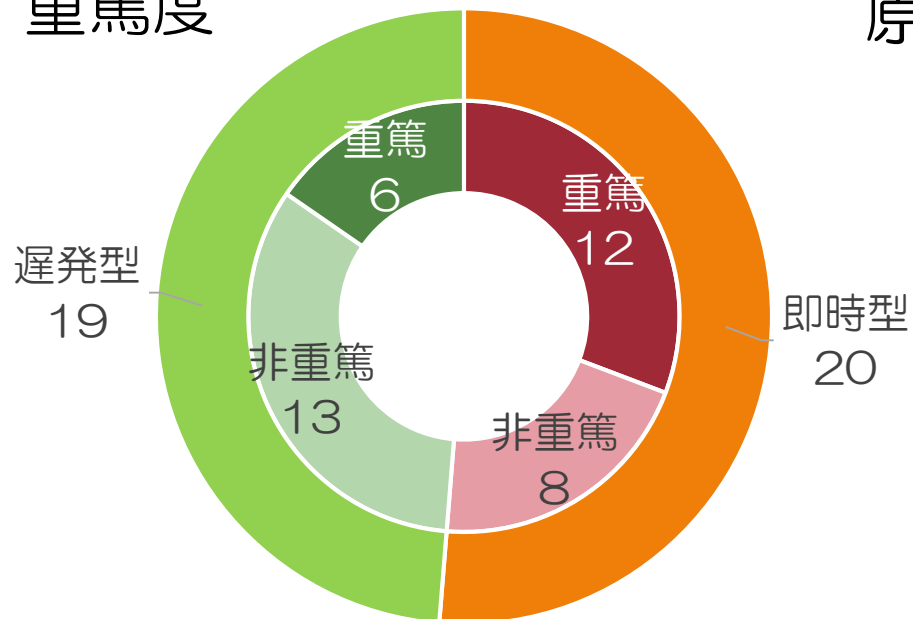
上記指標を参考に、症例の経過と胸部画像から総合的に評価

輸血副作用

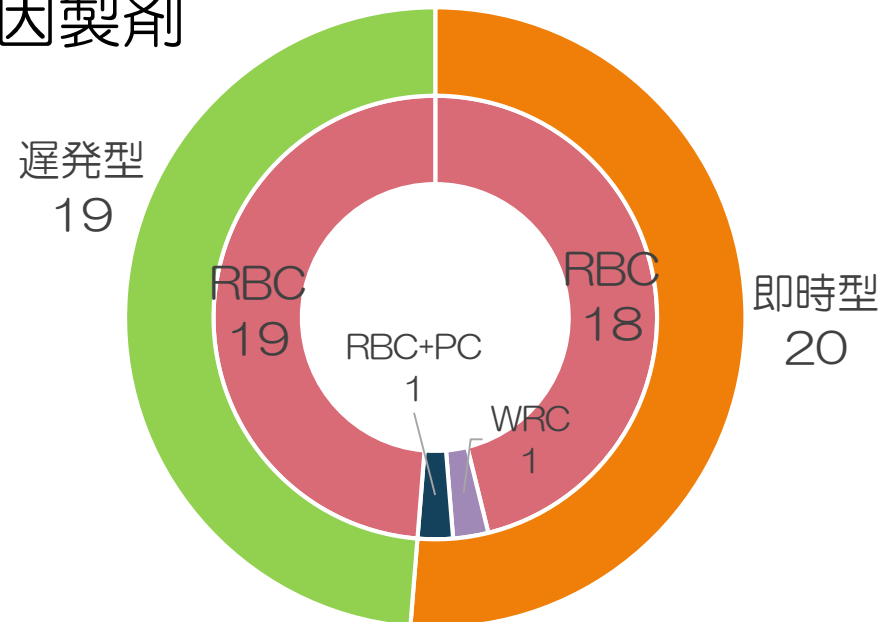
溶血性副作用

溶血性副作用報告件数 (2020)

重篤度



原因製剤



患者不規則抗体陽性（11例）と検出された抗体

	重篤		非重篤	
即時型	5	C,e,自己抗体：1 自己抗体：4		
遅発型	3	Jk ^a ：2 Jk ^b ：1※	3※	E,Jk ^b C Jk ^a

※ 医療機関からの報告

令和3年10月26日開催
薬事・食品衛生審議会
血液事業部会安全技術調査会資料

日本赤十字社血液事業本部

日本赤十字社における HEV NAT スクリーニング導入後の状況について

1 はじめに

輸血用血液製剤の HEV 安全対策として、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。）を用いた HEV NAT の全数スクリーニングを令和2年8月5日採血分から導入し約1年が経過したことから、その導入後の状況について報告する。

2 4 価 NAT 試薬を用いた HEV NAT スクリーニング

4 価 NAT 試薬は、発光スペクトルの違いにより一度の検査で HBV・HCV・HIV に加え HEV を同時に検出し、HEV は単独で判定することができる（図1）。

また、HEV の分析感度は、北海道地区で試行的に実施していた HEV NAT 試薬と同等である（表1）。

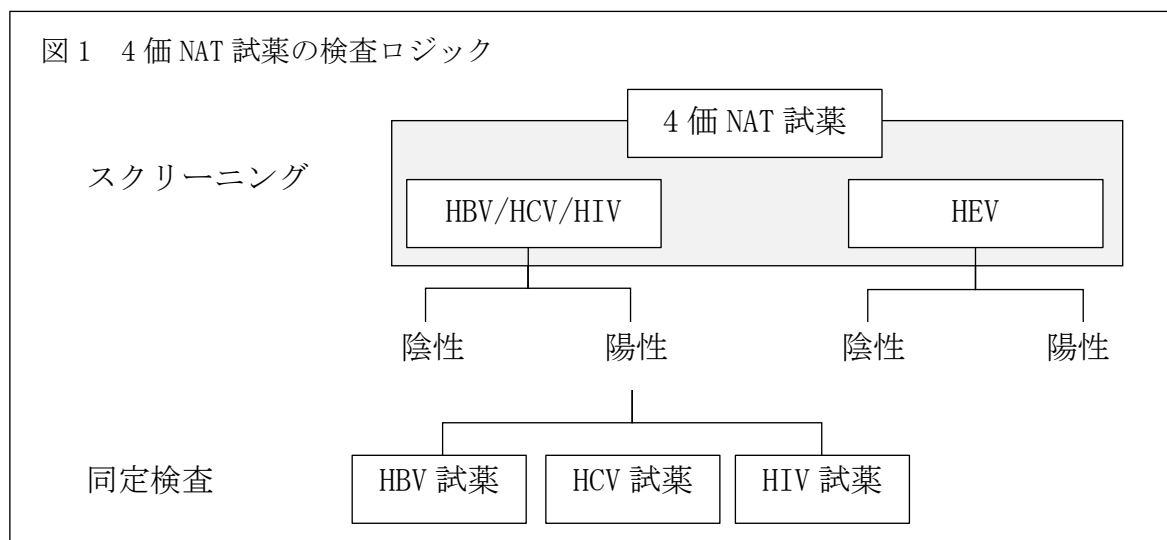


表1 WHO 国際標準品を用いた HEV の 95%検出限界（IU/mL）

WHO 国際標準品の パネル No.	4 価 NAT 試薬	北海道地区で試行的に 実施していた HEV NAT 試薬
6329/10 (PEI)	4.9	7.9

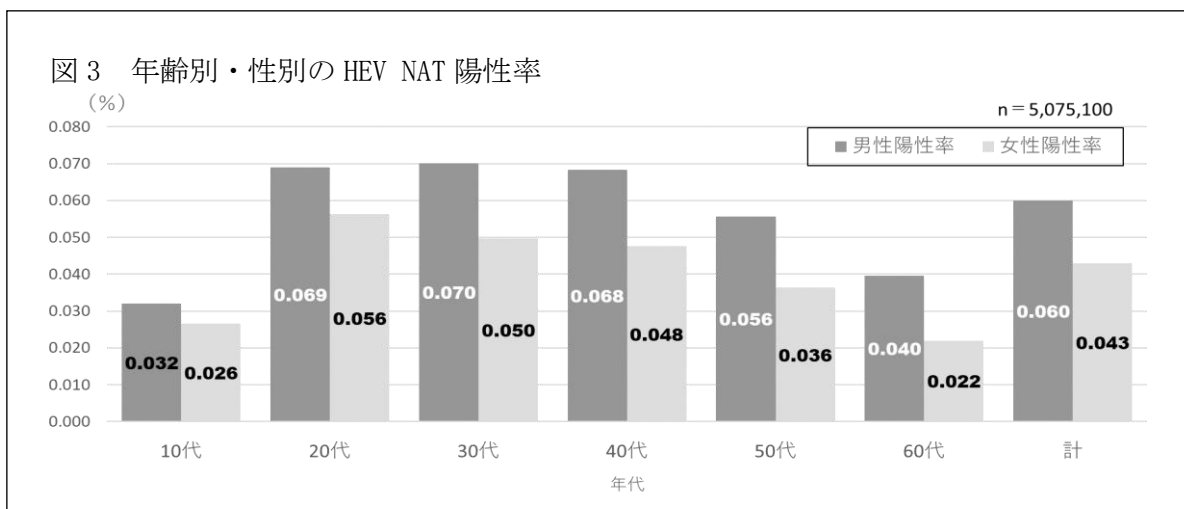
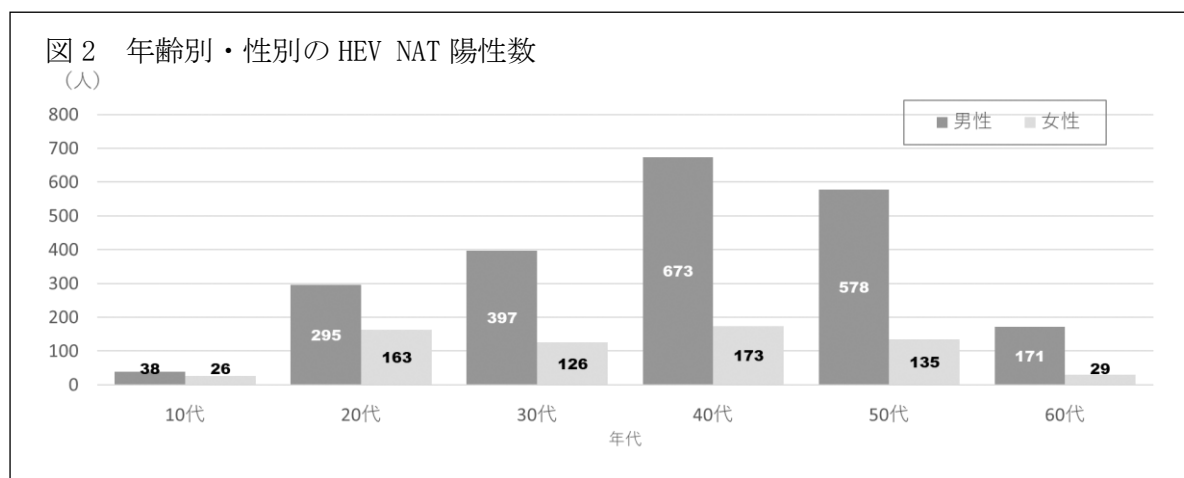
PEI: Paul-Ehrlich-Institute

3 HEV NAT スクリーニング導入後の状況

令和2年8月5日から令和3年8月4日までの1年間において、献血者 5,075,100 人中 2,804 人 (0.055%) が HEV NAT 陽性であった。

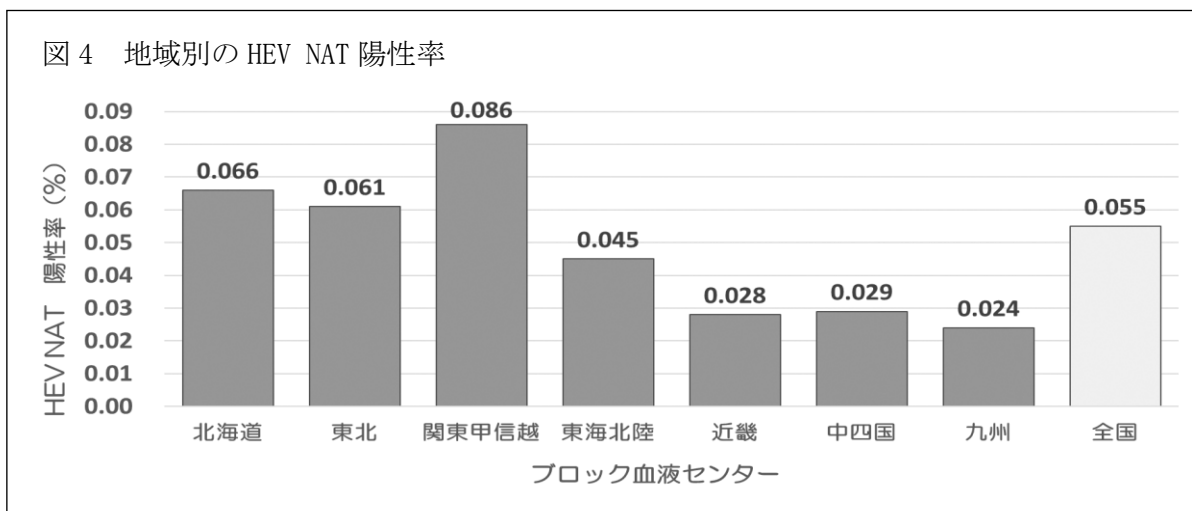
(1) 年代別・性別の HEV NAT 陽性数と陽性率

HEV NAT 陽性者の年齢中央値は 45 歳（男性 46 歳、女性 41 歳）で、20～40 歳代の陽性率が高値であった。また、性別は男性比率が 76.7%（男性 2,152 人、女性 652 人）であった。HEV NAT 陽性率は、男性 0.060%、女性 0.043%で、20～40 代にピークを示した（図 2）（図 3）。



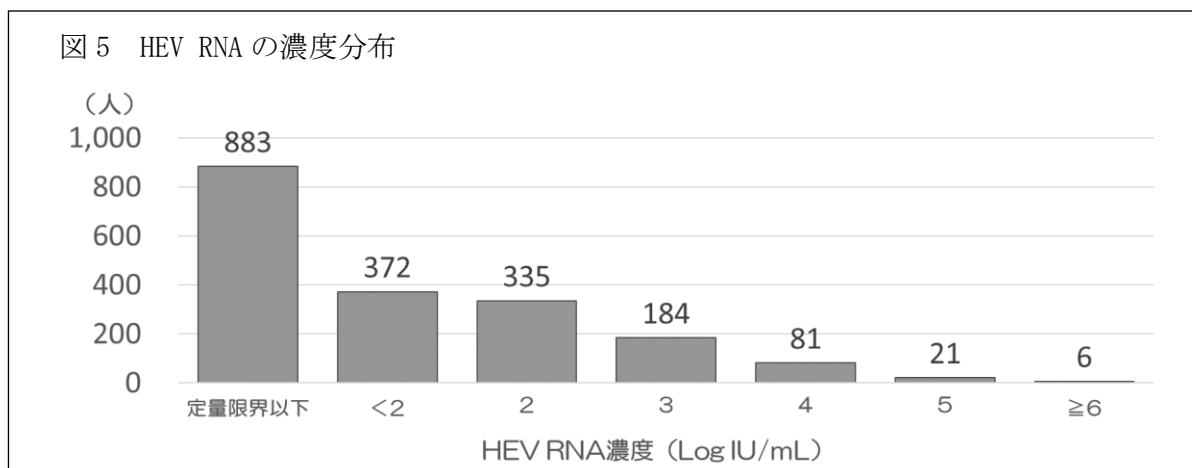
(2) 地域別の HEV NAT 陽性率

陽性率に地域差がみられ、一番高い関東甲信越と一番低い九州では 3.6 倍の差がみられた (図 4)。



(3) HEV RNA の濃度分布

令和 2 年 8 月 5 日から令和 3 年 3 月 31 日の陽性検体 1,882 本について HEV RNA の定量を行ったところ、およそ半数の 46.9% (883/1,882) が低濃度のため定量ができなかった (定量限界以下)。最大値は 6.26Log IU/mL であり、6.0Log IU/mL 以上の HEV Genotype は、3a (n=3), 3b (n=2), 4a (n=1) であった (図 5)。



(4) HEV Genotype

令和 2 年 8 月 5 日から令和 3 年 3 月 31 日の陽性検体 771 例について、遺伝子型の解析を行ったところ、Genotype 3 が 760 例 (98.6%)、Genotype 4 が 11 例 (1.4%) であった。なお、Genotype 4 の 11 例は、8 例 (4c) が北海道、2 例 (4a) が東京と静岡、1 例 (4d) が青森で検出された。

（５）HEV の遡及調査

HEV NAT スクリーニング開始後、遡及調査期間である 6 カ月にわたり、HEV NAT 陽転にかかる遡及調査を実施した。HEV NAT 陽転前 6 カ月に献血歴があった献血者が 756 人、遡及調査対象の献血件数は 2,163 件で、保管検体を用いて実施した HEV NAT が陽性となったのは 14 件だった。これら 14 件の献血から赤血球製剤 1 本、血小板製剤 5 本、新鮮凍結血漿 1 本、原料血漿 13 本が製造され、赤血球製剤と血小板製剤の受血者 6 名について調査を実施したところ、1 名が輸血後に HEV NAT 陽性となったがいずれも E 型肝炎の発症は認められなかった。新鮮凍結血漿は貯留保管中だったため供給停止とした。

なお、医療機関発の遡及調査件数は HEV NAT 導入後減少傾向にあり、HEV NAT 導入後の血液により感染が特定した事例はない。（図 6）。

