

NATコントロールサーベイ事業 2021年度 実績報告

事業代表者 浜口 功

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。

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。これを踏まえて、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、輸血用血液の NAT スクリーニング試験及び同定試験の 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

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、HBV, HCV, HIV-1, HEV 国内標準品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、HEV の NAT 全てが陰性) を用

いた。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 倍濃度にあたる 300 IU/mL 或いは 600 IU/mL に検体を希釈調製した。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 3.6 IU/mL と極めて低いことを鑑み、HBV や HCV と同様の 100 IU/mL とその 3 倍濃度にあたる 300 IU/mL に検体を希釈調製した。スクリーニング試験用パネルとして 9 検体、及び同定試験用パネルとして 6 検体の計 15 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

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 を識別するための同定試験とから構成されている。参加施設はスクリーニング試験と同定試験の両方の試験法を用いて、スクリーニング試験用パネル 9 検体及び同定試験用パネル 6 検体に対してそれぞれ日を変えて 2 回ずつ測定した。

### 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同定試験法の両方において HBV、HCV、HIV-1、および HEV 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、HIV-1、および HEV の検出限界値に希釈された検体およびその 3 倍濃度に希釈された検体を全て検出できることを確認した。陰性対照は全て陰性と判定された。

#### (2) 研究施設および試薬メーカーにおける NAT

オブザーバーとして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 HBV、HCV、HIV-1、および HEV の検出限界値に希釈された検体およびその 3 倍濃度に希釈された検体を全て検出できることを確認した。陰性対照は全て陰性と判定された。

### 3. 考察

2021 年度に実施した HBV, HCV, HIV-1, HEV の 4 ウイルスパネルを用いた第 12 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同定試験の両試験法において、HBV、HCV、HIV-1、および HEV の各ウイルスの陽性検体を問題なく検出できることを確認できた。陰性対照は全て陰性と判定された。

輸血用血液製剤の NAT 実施施設 8 施設において、輸血用血液の NAT スクリーニング試験法が 2020 年 8 月より従来の HBV、HIV、HCV に HEV の検出を加えたマルチプレックス法に更新された。今回のサーベイによって、新しい試験法に関する精度管理が適切に実施されていることを確認した。

#### 4. 2022 年度の実施計画（表 4）

2022 年度は、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 の感度と特異性の実情把握を目的とした第 13 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

## 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

## 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 国内標準品を用いた4ウイルスパネル

検体番号	試料	Genotype/Subtype	濃度 (IU/mL)	表示力価 (IU/mL)
01	HBV DNA国内標準品	Genotype C	300	1.06x10 <sup>6</sup>
02	陰性血漿	—	—	—
03	HIV-1 RNA国内標準品	Subtype B	600	7.5x10 <sup>4</sup>
04	HEV RNA国内標準品	Genotype 3b	300	2.5x10 <sup>5</sup>
05	HCV RNA国内標準品	Genotype 1b	300	2.6x10 <sup>5</sup>
06	HEV RNA国内標準品	Genotype 3b	100	2.5x10 <sup>5</sup>
07	HBV DNA国内標準品	Genotype C	100	1.06x10 <sup>6</sup>
08	HCV RNA国内標準品	Genotype 1b	100	2.6x10 <sup>5</sup>
09	HIV-1 RNA国内標準品	Subtype B	200	7.5x10 <sup>4</sup>

### 表3 日本赤十字社ブロック血液センターの 4ウイルスの検出・同定結果

検体番号	試料	Genotype/Subtype	濃度 (IU/mL)	スクリーニング 試験 (施設)	同定試験 (施設)
01	HBV DNA国内標準品	Genotype C	300	8/8	8/8
02	陰性血漿	—	—	0/8	—
03	HIV-1 RNA国内標準品	Subtype B	600	8/8	8/8
04	HEV RNA国内標準品	Genotype 3b	300	8/8	—
05	HCV RNA国内標準品	Genotype 1b	300	8/8	8/8
06	HEV RNA国内標準品	Genotype 3b	100	8/8	—
07	HBV DNA国内標準品	Genotype C	100	8/8	8/8
08	HCV RNA国内標準品	Genotype 1b	100	8/8	8/8
09	HIV-1 RNA国内標準品	Subtype B	200	8/8	8/8

# 表4 国内標準品を用いた3ウイルスパネル（案）

	検体	濃度 (IU/mL)	希釈血漿
01~10	低濃度HBV陽性検体	HBV 300	HCV陽性血漿 (> 10 <sup>4</sup> IU/mL)
			HIV-1陽性血漿 (> 10 <sup>4</sup> IU/mL)
			陰性血漿
	低濃度HCV陽性検体	HCV 300	HBV陽性血漿 (> 10 <sup>4</sup> IU/mL)
			HIV-1陽性血漿 (> 10 <sup>4</sup> IU/mL)
			陰性血漿
	低濃度HIV-1陽性検体	HIV-1 300	HBV陽性血漿 (> 10 <sup>4</sup> IU/mL)
			HCV陽性血漿 (> 10 <sup>4</sup> IU/mL)
			陰性血漿
	陰性検体	-	陰性血漿