

NATコントロールサーベイ事業 2024年度 実績報告

NAT コントロールサーベイ事業代表者
国立健康危機管理研究機構 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 水上 拓郎

1. 事業の目的

「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」（平成16年8月3日付け薬食発第0803002号、平成26年7月30日付け薬食発0730第1号にて一部改正）（以下、NATガイドライン）に基づき、血漿分画製剤製造販売業者等（製造所）と献血血液のスクリーニング実施施設は、主として、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）、C型肝炎ウイルス（HCV）及びB型肝炎ウイルス（HBV）の3ウイルスを、その他のウイルスについても適用可能としてNATを実施してきた。当該施設において実施するNATのバリデーションと精度管理がNATガイドラインによって求められていることから、平成16年度第1回薬事・食品衛生審議会血液事業部会安全技術調査会の指示に基づき、2006年以来NATの精度管理の実情を把握するためにコントロールサーベイを継続的に実施している。なお、2010年に発出されたWHOガイドラインにより、献血血液のスクリーニング実施施設において外部品質検査の実施が求められている。

2020年8月より採血事業者である日本赤十字社は、輸血用血液製剤の安全性向上のため、新たに個別検体によるE型肝炎ウイルス（HEV）に係るHEV-NATを導入したスクリーニングを開始した。新検査法ではマルチプレックスNATシステムを用いHBV、HCV、HIVと同時にHEVを検出する新しい4価NATが導入された。そこで2021年度は新試験法でのウイルス検出能についてNATコントロールサーベイを実施した。さらに2022年度および2023年度のNATコントロールサーベイではHBV、HCV、HIV-1、およびHEV NATの感度と特異性の実情把握を目的として、複数のウイルスが混在するパネルを用いたサーベイを実施してきた。

2024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、パルボウイルスB19（PVB19）NATの検出感度と特異性の実情把握を目的として、国内標準品を用いたサーベイを実施した。

2. 実施内容

2-1) 参加施設（表1）

血漿分画製剤の原料血漿プールの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

2-2) パネルの調製 (表 2)

材料として、HBV, HCV, HIV-1, HEV, 及び PVB19 NAT 国内標準品を用いて評価用のパネルを作製した。国内標準品の希釈には、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)、あるいは 4 ウイルスの何れかが高濃度 ($>3 \times 10^3$ IU/mL) に含まれる陽性血漿を用いた。PVB19 の低濃度陽性検体として、輸血用血液のスクリーニング NAT 検査で必要とされる検出限界値 (HBV: 100 IU/mL, HCV: 100 IU/mL, HIV-1: 200 IU/mL, HEV: 未定) の 1.5 倍あるいは 3 倍濃度にあたる 300 IU/mL に検体を希釈調製した。さらに PVB19 の高濃度陽性検体として、3000 IU/mL に検体を希釈調製した。陰性対照検体も含めた計 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。

2-3) 測定

血漿分画製剤の原料血漿プールの NAT 実施施設と試薬メーカーは、コバス TaqScreen DPX Test (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 PVB19 および A 型肝炎ウイルスの 2 ウイルスを検出すると同時に種類を同定する。参加施設は上記の 11 検体についてそれぞれ日を変えて 3 回測定した。

2-4) 結果

(A) 血漿分画製剤製造所の原料血漿プールの NAT (表 3)

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、PVB19 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 PVB19 の高濃度 (3000 IU/mL) および低濃度 (300 IU/mL) に希釈された検体、かつ高濃度の他のウイルスが混在した検体 ($>3 \times 10^3$ IU/mL) でも標的のウイルスが特異的に検出・同定できることが確認された。陰性対照は全て陰性と判定された。

なお、参加 1 施設の 2 回目の測定機会において、機器トラブルによって測定結果が得られない事態が発生したが、その後解消し、本サーベイ期間内に 3 回目の測定結果を得た。当該施設の 1 回目と 3 回目の測定結果はほぼ同値であった。また、同時期に実施された当該施設における独自の試験法バリデーションデータを確認し、試験精度管理に問題が無いことを確認した。

(B) 研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にて実施されている NAT 試験は、PVB19 の高濃度 (3000 IU/mL) および低濃度 (300 IU/mL) に希釈された検体、かつ高濃度の他のウイルスが混在した検体 ($>3 \times 10^3$ IU/mL) でも標的のウイルスが特異的に検出・同定できることが確認された。陰性対照は全て陰性と判定された。

3. 考察

本邦の生物由来原料基準において、PVB19 は血漿分画製剤の原料血漿プールに対して NAT 試験によるスクリーニングが必須ではないものの、各製造所において米国 FDA NAT ガイドラインを準用した規格で管理されている (PVB19 DNA <10⁴ IU/mL)。また欧米では COVID-19 パンデミック後に献血血液における PVB19 陽性率の顕著な増加が報告されており、各製造所における当該ウイルスに対する試験精度管理は重要性を増している。

2024 年度に実施した PVB19 のウイルスパネルを用いた第 15 回 NAT コントロールサーベイにて、血漿分画製剤製造所の原料血漿プールに対する NAT 試験において、PVB19 の陽性検体を全て検出できたことから、試験の精度管理が適切に実施されていることが確認された。全施設において PVB19 の高濃度および低濃度に希釈された検体、かつ高濃度の他のウイルスが混在した検体でも標的のウイルスが特異的に検出・同定されたことから、検出感度および検出特異性は高い水準で維持されていると考えられる。

4. 2025 年度の実施計画 (表 4)

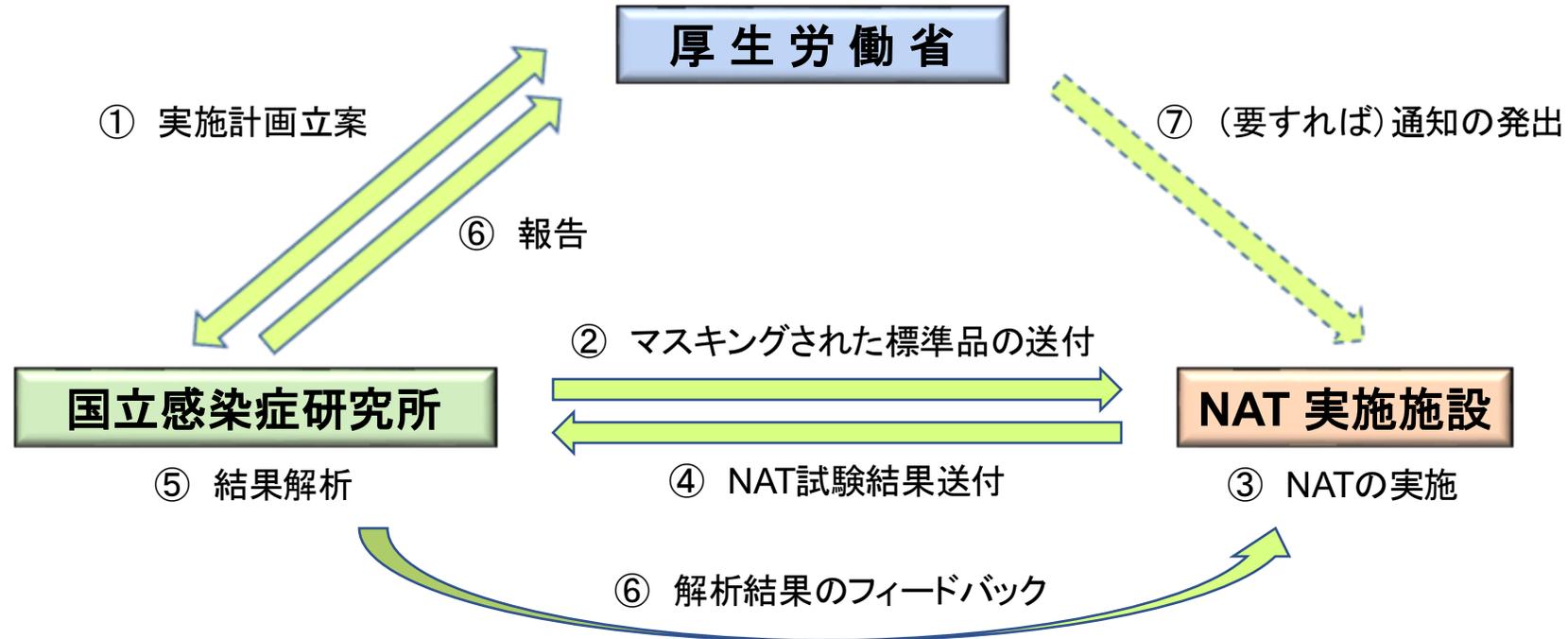
輸血用血液の NAT スクリーニング試験法が 2020 年 8 月より HEV の検出を加えたマルチプレックス法に更新された。2025 年度は、輸血用血液の NAT 実施施設を対象に、NAT 試験評価用 HEV 国内参照パネルを活用し、新しい試験法における様々な HEV 株の検出感度と特異性の実情把握を目的とした第 16 回 NAT コントロールサーベイの実施を計画している。

NATコントロールサーベイ事業の概要

事業目的・実施内容

- 血液製剤の安全性確保のために、メーカー等のNAT実施施設において適切な精度管理が実施されていることを確認するもの
- 血液事業部会運営委員会において、メーカー等のNAT実施施設に対し、定期的にコントロールサーベイを実施することが求められている
- 平成22年に出されたWHOガイドラインにより、献血血液のスクリーニング実施施設において外部品質検査の実施が求められている
- 日本国内におけるNAT実施施設それぞれにおいて、マスキングされた標準の検体を測定することで、各施設におけるNATの感度や精度を相互に比較することが可能になるため、公的な第三者機関である国立感染症研究所で標準検体を作製しコントロールサーベイを実施する必要がある

実施主体 : 国立感染症研究所
対象(NAT 実施施設): 献血スクリーニング施設、血漿分画製剤製造所、民間の衛生検査所、その他



- ① 厚生労働省と感染研で、対象となるウイルス等を決定し、NAT コントロールサーベイの実施計画を立案。
- ② 実施計画に基づき、コントロールサーベイの対象となるNAT実施施設にマスキングされた標準品を送付。(必要に応じ感染研で標準品を入手又は作成する。)
- ③ 標準品に対し、NATを実施する。
- ④ NATの結果を感染研に送付する。
- ⑤ 各施設から送付されてきた結果を解析し、とりまとめる。
- ⑥ とりまとめた結果を、厚生労働省に報告するとともに、各解析対象の施設にフィードバックする。
- ⑦ 感染研からの報告、是正等の措置が必要となった場合、必要に応じて通知を発出する等により対処する。

NATコントロールサーベイ事業の履歴一覧

回	年度	対象ウイルス・備考	予算
第1回	2006	HBV NAT	厚生労働科学研究費 補助金
-	2007		
第2回	2008	HCV/ HIV-1 NAT	
第3回	2009	HBV genotype NAT	
第4回	2010	HIV-1 NAT for Blood Screening	厚生労働省 NATコントロール サーベイ事業
第5回	2011	HCV genotype NAT	
第6回	2012	HBV genotype NAT for IVD	
	2013-2014	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新しいマルチプレックス法に更新	
-	2013	cobas s201 設置・評価	
-	2014	HCV/ HIV-1国内標準品への微量HBV混入調査	
第7回	2015	Multiplex NAT for Source Plasma and Blood Screening (HBV/ HCV/ HIV)	
第8回	2016	HBV genotype NAT for Source Plasma and Blood Screening	
第9回	2017	HIV subtype NAT for Blood Screening	
	2018	HIV subtype NAT for Source Plasma	
第10回	2019	HCV genotype NAT for Source Plasma and Blood Screening	
第11回	2020	HIV-1 CRF NAT for Source Plasma and Blood Screening	
	2020	輸血用血液のNATスクリーニング試験法がHEVの検出を加えたマルチプレックス法に更新	
第12回	2021	HBV/ HCV/ HIV-1/ HEV NAT for Blood Screening	
第13回	2022	Multiplex NAT for Source Plasma (HBV/ HCV/ HIV-1)	
第14回	2023	Multiplex NAT for Blood Screening (HBV/ HCV/ HIV-1/ HEV)	
第15回	2024	Multiplex NAT for Source Plasma (Parvovirus B19)	
第16回	2025	Multiplex NAT for Blood Screening (HEV genotype panel)	

今後の検討課題	PVB19	HAV	HEV genotype panel
	HBV/ HCV/ HIV 国内標準品の更新		

表1. 参加施設一覧

血漿分画製剤製造所

一般社団法人 日本血液製剤機構

KMバイオリジクス株式会社

武田薬品工業株式会社 (成田工場)

武田薬品工業株式会社 (Vienna)

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

ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社

表2. 国内標準品を用いたパルボウイルスB19パネル

番号	検体	濃度 (IU/mL)	希釈血漿
01~11 ブラインド 化して測 定	高濃度PVB19陽性検体	PVB19 3000	HBV陽性血漿 ($> 3 \times 10^3$ IU/mL)
			HCV陽性血漿 ($> 3 \times 10^3$ IU/mL)
			HIV-1陽性血漿 ($> 3 \times 10^3$ IU/mL)
			HEV陽性血漿 ($> 3 \times 10^3$ IU/mL)
			陰性血漿
	低濃度PVB19陽性検体	PVB19 300	HBV陽性血漿 ($> 3 \times 10^3$ IU/mL)
			HCV陽性血漿 ($> 3 \times 10^3$ IU/mL)
			HIV-1陽性血漿 ($> 3 \times 10^3$ IU/mL)
			HEV陽性血漿 ($> 3 \times 10^3$ IU/mL)
		陰性血漿	
	陰性検体	—	陰性血漿

日を変えて3回ずつ測定

表3. 血漿分画製剤製造所5施設のバルボウイルスB19検出・同定結果

検体番号	Day1	Day2	Day3	Total
	PVB19	PVB19	PVB19	
01	5/5	4/4	5/5	14/14
02	5/5	4/4	5/5	14/14
03	5/5	4/4	5/5	14/14
04	5/5	4/4	5/5	14/14
05	5/5	4/4	5/5	14/14
06	5/5	4/4	5/5	14/14
07	5/5	4/4	5/5	14/14
08	5/5	4/4	5/5	14/14
09	5/5	4/4	5/5	14/14
10	5/5	4/4	5/5	14/14
11	0/5	0/4	0/5	0/14

表4. HEV国内参照品を用いたウィルスパネル (案)

番号	検体	濃度 (IU/mL)	Genotype	Cluster
01~11 ブラインド 化して測定	高濃度HEV陽性検体	HEV 3000	G3	G3JP
				G3SP
				G3SP
				G3US
			G4	G4JP
	低濃度HEV陽性検体	HEV 300	G3	G3JP
				G3SP
				G3SP
				G3US
			G4	G4JP
陰性検体	-	-	-	

日を変えて3回ずつ測定