

平成26年度 NAT コントロールサーベイ事業報告
事業代表者 浜口 功 国立感染症医研究所血液・安全性研究部 部長

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」（NAT ガイドライン）に基づいて、わが国で使用する血漿分画製剤製造販売業者等（分画製剤製造所）と輸血用血液製剤のスクリーニング実施施設は B 型肝炎ウイルス(HBV)、C 型肝炎ウイルス(HCV)及びヒト免疫不全ウイルス(HIV)の3ウイルスの NAT を実施している。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、血液事業部会安全技術調査会の指示に基づき、平成18年以來 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。

平成25年に国内の分画製剤製造所の原料血漿プールの NAT がマルチプレックス法の cobas s 201/TaqScreen MPX（ロシュ・ダイアグノスティクス社；以下、ロシュ）に更新され、上述の3ウイルスを識別して検出することが可能になった。また、平成26年8月には、日本赤十字社は輸血用血液製剤の NAT スクリーニングの試験法を Procleix® PANTHER® System/ Procleix Ultrio Elite Assay に変更すると同時に個別 NAT を導入した。このような技術の進歩を踏まえて、平成26年に NAT ガイドラインの改訂と献血個別 NAT 導入に伴う検出限界の改正が行われた。そこで、平成26年度は現に実施されている試験法において改訂後のガイドラインに従って3つのウイルスの検出と識別ができるかの実情把握を目的として、分画製剤製造所と輸血用血液製剤の NAT 実施施設とを対象として、NAT コントロールサーベイを実施することとした。

2. 実施内容

(1) パネル原料とする国内標準品の精査

国立感染症研究所（以下、感染研）に平成25年度導入したcobas s 201/TaqScreen MPXの性能評価の過程でHCV-RNA国内標準品とHIV-RNA国内標準品への微量なHBV-DNAの混入が示唆された。そこで、感染研、ロシュ、日本赤十字社中央研究所が各々異なるHBV-NAT法を用いてHCV国内標準品とHIV国内標準品を測定した結果、HCV-RNA国内標準品とHIV-RNA国内標準品に微量のHBV-DNAが混入していることが判明した。平成26年度第二回安全技術調査会に報告するとともに利用者に周知した。

(2) 実施要綱の作成

従来の試験法と比較して今回対象とするいずれの試験法も HIV として HIV-2 の検出が可能である。しかし、分画製剤製造所が使用する TaqScreen MPX は対象とする3ウイルスを識別して検出できるのに対し、輸血用血液製剤のスクリーニング施設が使用する Procleix® PANTHER® System/ Procleix Ultrio Elite Assay はスクリーニング試験と同定試験が別である。そこで、対象施設を分画製剤製造所と輸血用血液製剤スクリーニング施設とに分けて NAT コントロールサーベイを実施することとし、それぞれの試験法の特性に応じた実施要綱

を作成した。サーベイで使用するパネルの材料には HCV-RNA、HBV-DNA 及び HIV-RNA 国内標準品と国際標準品を用いる。血漿分画製剤については、プール後の原料血漿の NAT の検出限界が HCV、HBV 及び HIV それぞれについて 100 IU/mL を担保できるべく精度管理を行うこととされている（※1）。そこで、その検出限界が担保されていることを確認するために、その3倍濃度にあたる HCV 300 IU/mL、HBV 300 IU/mL、HIV 300 IU/mL の検体からなるブラインド化した感度パネル A を使用する。さらに、他のウイルスが高濃度に共存しても目的ウイルスを識別できることを確認するためのパネル B を使用する（別添資料1）。一方、輸血用血液製剤の個別 NAT に用いる検査用検体の血漿で必要とされる NAT の検出限界は HCV 100 IU/mL、HBV 100 IU/mL、HIV 200 IU/mL と定められたことから（※2）、同様に、その3倍濃度の HCV 300 IU/mL、HBV 300 IU/mL、HIV 600 IU/mL の検体からなるブラインド化した感度パネル C（及び検体 E）と、他のウイルスが高濃度に共存しても目的ウイルスを識別できることを確認するためのパネル D を使用する（別添資料2）。パネル B と D の調製には共存する高濃度ウイルスの材料として国内標準品を使用するが、（1）で HCV-RNA 国内標準品と HIV-RNA 国内標準品には微量の HBV-DNA が混入していることが判明したので、その影響を無視できるように各国内標準品を10倍以上希釈して使用することとした。パネルの詳細、測定方法、結果の提出、結果の解析、結果の報告、病源体の取り扱い等については別添資料1、2実施要綱の通り。

（3）参加施設と試験法

①分画製剤製造所

参加施設：国内3施設、海外2施設、オブザーバーとして試薬メーカー1施設。

試験法：全施設がcobas s 201/TaqScreen MPX（ロシュ）を使用。

②輸血用血液製剤のNAT実施施設

参加施設：検査施設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

試験法：Procleix® PANTHER® System/ Procleix Ultrio Elite Assay（ノバルティス ファーマ）

（4）パネルの配布と結果の報告

8月に①の参加施設に、9月上旬に②の参加施設にパネルを配布する予定である。参加施設はパネル受領後50日以内に感染研に結果を報告することになっている。

3.平成27年度の実施計画

（1）平成26年度に引き続き実施中の NAT コントロールサーベイの結果の解析と NAT の精度管理の評価。

（2）分画製剤製造所と輸血用血液製剤スクリーニング施設を対象とした HBV 遺伝子型パネルを用いた NAT コントロールサーベイの材料の入手と実施要綱(案)の検討。

※1）薬食審査発第1107001号・薬食安発第1107001号・薬食監発第1107001号・薬食血発第1107001号通知「血漿分画製剤のウイルス安全対策について」（平成15年11月7日）

※2）薬食血発0730第2号通知「輸血用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）に必要とされる検出限界値について」（平成26年7月30日）

平成 27 年 6 月 24 日

NAT コントロールサーベイ事業代表者
国立感染症研究所
血液・安全性研究部 部長 浜口 功

第 7 回 HBV-NAT 等感染症検査に係るコントロールサーベイ実施要綱
HCV, HBV 及び HIV の感度パネルを用いた NAT コントロールサーベイ
(血漿分画製剤の原料血漿プールの NAT を実施する施設用)

1 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」(NAT ガイドライン) に基づいて、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 B 型肝炎ウイルス (HBV)、C 型肝炎ウイルス (HCV) 及びヒト免疫不全ウイルス (HIV) の 3 ウイルスの NAT を実施している。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、血液事業部会安全技術調査会の指示に基づき、平成 18 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。

平成 25 年に国内の血漿分画製剤製造所の原料血漿プールの NAT が更新され、マルチプレックス法を導入した施設においては上述の 3 ウイルスの検出と同定を同時に行うことが可能になった。また、平成 26 年 8 月に日本赤十字社は輸血用血液製剤の NAT スクリーニングの試験法を PANTHER® System に更新すると同時に個別 NAT を導入した。このような技術の進歩を踏まえて、NAT ガイドラインの改訂 (平成 25 年度第二回安全技術調査会) と個別 NAT 導入に伴う NAT 感度の改正 (平成 26 年度第一回同調査会) が行われた。

そこで、本年度は現に実施されている試験法において改訂後のガイドラインに従って 3 つのウイルスを検出・同定することができるかの実情把握を目的として、対象施設を (1) わが国で使用する血漿分画製剤の原料血漿プールの NAT を実施する施設と (2) 輸血用血液製剤の NAT を実施する施設とに分けて NAT コントロールサーベイを実施する。

2 対象とする検査

HCV-NAT、HBV-NAT 及び HIV-NAT、

3 参加施設

わが国で使用する血漿分画製剤の原料血漿プールの NAT を実施する施設

参加・不参加については別途定める期日までに参加票をメールで感染研 NAT サーベイ担当者に提出する。

試薬メーカーの参加はオブザーバーとする。

4 検体

(1) 血漿分画製剤製造所で実施している 3 ウイルスの検出と同定を同時に行うマルチプレックス法については次のパネルを用いる。その他の試験法については別途、試験法に応じたパネルを用いる。

感度パネル A

| ウイルス | 原血漿 | 濃度 (IU/mL) | 希釈血漿 |
|-------|-------|------------|------|
| HCV | 国際標準品 | 300 | 陰性血漿 |
| HCV | 国内標準品 | 300 | 陰性血漿 |
| HBV | 国際標準品 | 300 | 陰性血漿 |
| HBV | 国内標準品 | 300 | 陰性血漿 |
| HIV-1 | 国際標準品 | 300 | 陰性血漿 |
| HIV-1 | 国内標準品 | 300 | 陰性血漿 |
| 陰性対照 | 陰性血漿 | | |

合計 7 本

感度パネル B

| ウイルス | 原血漿 | 濃度 (IU/mL) | 希釈血漿 |
|-------|-------|------------|-----------------------------------|
| HCV | 国際標準品 | 300 | HBV 陽性血漿 (>10 ⁴ IU/mL) |
| HCV | 国際標準品 | 300 | HIV 陽性血漿 (>10 ⁴ IU/mL) |
| HBV | 国際標準品 | 300 | HCV 陽性血漿 (>10 ⁴ IU/mL) |
| HBV | 国際標準品 | 300 | HIV 陽性血漿 (>10 ⁴ IU/mL) |
| HIV-1 | 国際標準品 | 300 | HBV 陽性血漿 (>10 ⁴ IU/mL) |
| HIV-1 | 国際標準品 | 300 | HCV 陽性血漿 (>10 ⁴ IU/mL) |
| HIV-2 | 国際標準品 | 300 | 陰性血漿 |

合計 7 本

(2) 分注量： 各 1mL 以上

(3) 配布

国立感染症研究所から各参加施設にブラインド化された感度パネル A を 3 セットと感度パネル B を 1 セット送付する。

一回の測定に必要な検体の容量を事前に調査し、1mL よりも多量の検体が必要な施設には対応する。

5 測定方法

測定回数

感度パネル A は日をかえて 3 回測定する。感度パネル B は 1 回測定する。検体は測定日ごとに新しいセットを融解し、攪拌してそのまま測定に用いる。同じ検体の測定は 1 回限りとし、原則として再測定及び多重測定は行わない。

試験法

NAT ガイドラインに基づいてバリデートされ現に実施している試験法により測定する。

結果の記載方法

陰性/陽性を記載する。

6 結果の提出

各参加機関は、試料を受け取り後 50 日以内に測定結果を国立感染症研究所の NAT サーベイ担当者へ提出する。

7 結果の解析

国立感染症研究所において解析する。

8 結果の報告

参加施設には各自のコード番号を通知するので、送付された結果報告書の内容を確認の上、意見を期日までに提出する。本事業代表者は薬事・食品衛生審議会血液事業部会安全技術調査会に報告する。結果を公表する際には参加施設をコード番号で表し、本実施要綱の「1. 目的に記載した対象施設（1）、（2）」の別、及びキット名、抽出量等の試験方法を必要な範囲で公開する。

9 費用負担

参加費用は徴収しないが、検査試薬等測定に係る費用は参加施設が各自負担する。海外施設への輸送費用は参加施設の負担とし、方法については別途相談して決定する。

10 病原体の取扱い

国立感染症研究所病原体等安全管理規程に従い、検体の取扱はバイオセーフティーレベル 2 実験室又はそれに準じた施設に限られる。検体送付に先立ち、参加施設は病原体移動に必要な書類を感染研の担当者へ提出する。

問い合わせ先：国立感染症研究所

血液・安全性研究部

NAT サーベイ担当者：水澤 左衛子

電話〔代表〕042-561-0771、〔直通〕042-848-7124

平成 27 年 7 月 21 日

NAT コントロールサーベイ事業代表者
国立感染症研究所
血液・安全性研究部 部長 浜口 功

第 7 回 HBV-NAT 等感染症検査に係るコントロールサーベイ実施要綱
HCV, HBV 及び HIV の感度パネルを用いた NAT コントロールサーベイ
(輸血用血液製剤の NAT 実施施設用)

1 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」(NAT ガイドライン) に基づいて、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 B 型肝炎ウイルス(HBV), C 型肝炎ウイルス(HCV)及びヒト免疫不全ウイルス(HIV)の 3 ウイルスの NAT を実施している。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、血液事業部会安全技術調査会の指示に基づき、平成 18 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。

平成 25 年に国内の血漿分画製剤製造所の原料血漿プールの NAT が更新され、マルチプレックス法を導入した施設においては上述の 3 ウイルスの検出と同定を同時に行うことが可能になった。また、平成 26 年 8 月に日本赤十字社は輸血用血液製剤の NAT スクリーニングの試験法を PANTHER® System に更新すると同時に個別 NAT を導入した。このような技術の進歩を踏まえて、NAT ガイドラインの改訂 (平成 25 年度第二回安全技術調査会) と個別 NAT 導入に伴う NAT 感度の改正 (平成 26 年度第一回同調査会) が行われた。

そこで、本年度は現に実施されている試験法において改訂後のガイドラインに従って 3 つのウイルスを検出・同定することができるかの実情把握を目的として、対象施設を(1)わが国で使用する血漿分画製剤の原料血漿プールの NAT を実施する施設と(2)輸血用血液製剤の NAT を実施する施設とに分けて NAT コントロールサーベイを実施する。

2 対象とする検査

HCV-NAT、HBV-NAT 及び HIV-NAT、

3 参加施設

輸血用血液製剤の NAT スクリーニング実施施設

参加・不参加については別途定める期日までに参加票をメールで感染研 NAT サーベイ担当者に提出する。

試薬メーカーの参加はオブザーバーとする。

4 検体

(1) 輸血用血液製剤の NAT スクリーニング実施施設で実施している試験法については表 1 のパネル C~E を用いる。本実施要綱「5 測定方法」をよく読んでから測定する。

[表 1]

| 感度パネル C | | | |
|---------|-------|------------|-----------------------------------|
| ウイルス | 原血漿 | 濃度 (IU/mL) | 希釈血漿 |
| HCV | 国際標準品 | 300 | 陰性血漿 |
| HCV | 国内標準品 | 300 | 陰性血漿 |
| HBV | 国際標準品 | 300 | 陰性血漿 |
| HBV | 国内標準品 | 300 | 陰性血漿 |
| HIV-1 | 国際標準品 | 600 | 陰性血漿 |
| HIV-1 | 国内標準品 | 600 | 陰性血漿 |
| 陰性対照 | 陰性血漿 | | |
| 合計 7 本 | | | |
| 感度パネル D | | | |
| ウイルス | 原血漿 | 濃度 (IU/mL) | 希釈血漿 |
| HCV | 国際標準品 | 300 | HBV 陽性血漿 (>10 ⁴ IU/mL) |
| HCV | 国際標準品 | 300 | HIV 陽性血漿 (>10 ⁴ IU/mL) |
| HBV | 国際標準品 | 300 | HCV 陽性血漿 (>10 ⁴ IU/mL) |
| HBV | 国際標準品 | 300 | HIV 陽性血漿 (>10 ⁴ IU/mL) |
| HIV-1 | 国際標準品 | 600 | HBV 陽性血漿 (>10 ⁴ IU/mL) |
| HIV-1 | 国際標準品 | 600 | HCV 陽性血漿 (>10 ⁴ IU/mL) |
| | | | 合計 6 本 |
| 検体 E | | | |
| ウイルス | 原血漿 | 濃度 (IU/mL) | 希釈血漿 |
| HIV-2 | 国際標準品 | 600 | 陰性血漿 |

(2) 分注量：スクリーニング試験のみで測定する検体は 1mL、スクリーニング試験と識別試験の両方で測定する検体は 3mL。

(3) 配布

国立感染症研究所から各参加施設にブラインド化されたパネル C (1mLx2 セットと 3mLx1 セット)、パネル D (3mLx1 セット) 及び検体 E (1mLx1 本) を送付する。

5 測定方法

NAT ガイドラインに基づいてバリデートされ現に実施している試験法により測定する。表 2 に、測定ごとの試験法と使用するパネルをまとめたので、よく確認して間違いのないように測定する。検体は測定日ごとに新しいセットを融解し、攪拌してそのまま測定に用いる。同じ検体の測定は 1 回限りとし、原則として再測定及び多重測定は行わない。

〔表2〕

| 測定 | 試験法 | 使用するパネル | 検体量 |
|-----|----------------|-----------|------|
| 1回目 | スクリーニング試験のみ | パネルCのみ | 1 mL |
| 2回目 | スクリーニング試験のみ | パネルCと検体E | 1 mL |
| 3回目 | スクリーニング試験と識別試験 | パネルCとパネルD | 3 mL |

結果の記載方法

陰性/陽性を記載する。

6 結果の提出

各参加機関は、試料を受け取り後 50 日以内に測定結果を国立感染症研究所の NAT サーベイ担当者へ提出する。

7 結果の解析

国立感染症研究所において解析する。

8 結果の報告

参加施設には各自のコード番号を通知するので、送付された結果報告書の内容を確認の上、意見を期日までに提出する。本事業代表者は薬事・食品衛生審議会血液事業部会安全技術調査会に報告する。結果を公表する際には参加施設をコード番号で表し、本実施要綱の「1. 目的に記載した対象施設（1）、（2）」の別、及びキット名、抽出量等の試験方法を必要な範囲で公開する。

9 費用負担

参加費用は徴収しないが、検査試薬等測定に係る費用は参加施設が各自負担する。海外施設への輸送費用は参加施設の負担とし、方法については別途相談して決定する。

10 病原体の取扱い

国立感染症研究所病原体等安全管理規程に従い、検体の取扱はバイオセーフティーレベル2 実験室又はそれに準じた施設に限られる。検体送付に先立ち、参加施設は病原体移動に必要な書類を感染研の担当者へ提出する。

問い合わせ先：国立感染症研究所

血液・安全性研究部

NAT サーベイ担当者：水澤 左衛子

電話〔代表〕042-561-0771、〔直通〕042-848-7124