

資料 6

平成 28 年度第 1 回血液事業部会
安全技術調査会

平成 28 年 8 月 3 日

NAT コントロールサーベイ事業（平成 27 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

報告者 水澤左衛子 国立感染症研究所血液・安全性研究部 主任研究官

1. 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平成 25 と 26 年に新しいマルチプレックス法に更新された(1)。それを踏まえて、平成 26 年に「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）」の改正(2)と輸血用血液スクリーニングへの個別 NAT 導入に伴う NAT 感度の改正(3)が行われた。そこで、平成 27 年度は、更新したマルチプレックス試験法において改訂後の感度と NAT ガイドラインに従って 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 の検出感度と同定が適切に精度管理されているかの実情把握を目的として第 7 回 NAT コントロールサーベイを実施した。さらに、異なる遺伝子型のウイルスを見落としなく検出できるかの実情把握を目的として HBV 遺伝子型パネルを用いる第 8 回 NAT コントロールサーベイの実施要綱を作成した。

1. 「次期 NAT スクリーニングシステムの導入について」平成 26 年度第一回薬事・食品衛生審議会安全技術調査会 資料 2、平成 26 年 6 月 4 日
2. 「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試験（NAT）の実施に関するガイドライン」の一部改正について。薬食発 0730 第 1 号、平成 26 年 7 月 30 日
3. 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。薬食発 0730 第 2 号、平成 26 年 7 月 30 日

2. 実施内容

- (1) 第 7 回 NAT コントロールサーベイの実施（HBV, HCV 及び HIV の感度パネルを使用）
- (2) 第 8 回 NAT コントロールサーベイの実施要綱の作成（HBV 遺伝子型パネルを使用）

(1) 第 7 回 NAT コントロールサーベイの実施

<材料と方法>

材料に HCV, HBV, HIV-1 及び HIV-2 の NAT 国際標準品*と HCV, HBV 及び HIV の NAT 国内標準品**を用いた。NAT ガイドラインで目標とする感度の 3 倍濃度の HCV, HBV 及

び HIV の検体からなる感度パネルを使用した。1 種類ずつのウイルスを含む検体からなるパネル (3 回測定) と、高濃度の別のウイルスを共存させた検体からなるパネル (1 回測定) を調製し、ブラインド化して参加施設に送付した。

* : HCV genotype 1a, HBV genotype A, HIV-1 subtype B

** : HCV genotype 1b, HBV genotype C, HIV-1 subtype B

<結果 1 : 血漿分画製剤の原料プールの NAT> 表 1 参照

国内外 5 施設の分画製剤製造所等が参加した。全施設がコバス 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 3 ウイルスを検出すると同時に種類を同定する。全施設において 3 ウイルスを繰り返し正しく検出・同定できた。高濃度の他のウイルスの共存下でも目的とするウイルスを正しく検出・同定できた。全体で不成立となった測定が 2 回あったが偽陽性は無かった。

<結果 2 : 輸血用血液の NAT> 表 2, 表 3 参照

輸血用血液のスリーニング実施施設である日本赤十字社ブロック血液センター全 8 施設が参加し、Procleix Ultrio Elite ABD Assay (ノバルティス ファーマ株式会社) を用いて測定した。この試験法は 3 ウイルスを識別しないスクリーニング試験とスクリーニング陽性検体のウイルスを識別するための 3 種類の識別試験とからなっている。不成立の測定は無かった。検出試験では全施設において 3 ウイルスの検体を繰り返し正しく検出できた。陰性コントロールは全て陰性であった。識別試験は参加施設のうち 1 施設を除いた全施設において高濃度の他の共存ウイルスの有無にかかわらず目的とするウイルスを正しく同定できた。1 施設において陰性コントロール (検体 C4) と HBV を添加していない検体 D16 が HBV 識別試験で陽性となったが、その他の検体は全て他の施設と同様に正しく同定できた。日本赤十字社によれば、検体 C4 と検体 D16 が陽性となった原因として (1) 検査機器の異常 (2) 試薬の安定性と汚染 (3) 作業手順、の三点について調査した結果、(1) (2) は考えにくく、(3) の教育訓練を含めて作業手順に問題は見いだせなかったが、(3) の可能性を完全には否定できないと考えられた。その対応策として当該サーベイ実施担当者に対する座学及び実地研修を実施した。対応策を実施した後、再送付された検体 1 式の再試験を実施した。再試験の結果、検出試験と識別試験において HCV, HBV 及び HIV を正しく検出・同定できた。

<結論>

以上の結果から、分画製剤製造所等と輸血用血液のスリーニング実施施設において、更新したマルチプレックス試験法において改訂後の感度と NAT ガイドラインに従って HCV, HBV 及び HIV の 3 ウイルスの NAT の検出感度と同定が適切に精度管理されていることを確認した。

<その他>

- ・ パネルの希釈には「献血血液の研究開発での使用に関する指針」に基づいて日本赤十字社より有償で譲渡を受けた血漿を使用した。

- ・検体の取扱は国立感染症研究所病原体等安全管理規程に従って、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で行った。
- ・研究倫理：該当しない
- ・健康危険情報：なし

(2) 第 8 回 NAT コントロールサーベイ実施要綱の作成

前回と同じ施設と試験法を対象とする。ただし輸血用血液製剤の NAT においては検出試験と HBV 識別試験を対象とする。第一次 HBV-DNA 国際参照遺伝子型パネル(genotype A～G)等を NAT ガイドラインで目標とする感度 (95%DL) である 100 IU/mL の 3 倍濃度となるように陰性血漿で希釈して遺伝子型パネルを調製し、ブラインド化して参加者に送付する。参加者は 1 回測定し、国立感染症研究所が結果を解析する。

3. 平成 28 年度の実施計画

(1) 平成 27 年度に作成した実施要綱に従って HBV 遺伝子型パネルを用いた第 8 回 NAT コントロールサーベイを実施する。

(2) HIV 遺伝子型パネルを用いた第 9 回 NAT コントロールサーベイの実施要綱を作成し、実施する。前回と同じ施設と試験法を対象とする。ただし輸血用血液製剤の NAT においては検出試験と HIV 識別試験を対象とする。第二次 HIV-RNA 国際参照遺伝子型パネル(subtype/group A～D, F, G, N, O etc.)等を NAT ガイドラインで目標とする感度 (95%DL) (原料プールにおいては 100 IU/mL、輸血用血液においては 200 IU/mL) の 3 倍濃度となるように陰性血漿で希釈して遺伝子型パネルを調製し、ブラインド化して参加者に送付する。参加者は 1 回測定し、国立感染症研究所が結果を解析する。

以上