

NATコントロールサーベイ事業 2016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 感度の改正が行われた。

2016 年度は新しいマルチプレックス法における HBV-NAT の特異性の実情把握を目的として WHO HBV 遺伝子型パネル(A~G 型)を用いた第 8 回 NAT コントロールサーベイを実施した。原料血漿プールの NAT 並びに輸血用血液の NAT スクリーニング試験と HBV 確認試験を対象とした。

2. 実施内容

1) 参加施設 (表 1)

(1) 分画製剤製造所

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施設。

(2) 輸血用血液製剤の NAT 実施施設

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。

2) パネルの調製 (表 2)

材料に第 1 次 HBV 遺伝子型 WHO 国際参照パネル (遺伝子型 A-G), 第 3 次 HBV-DNA WHO 国際標準品、及び第 1 次 HBV-DNA 国内標準品を使用し、希釈には陰性血漿\*を用いた。NAT ガイドラインの HBV-NAT の目標感度の 1 倍濃度 (100 IU/mL, HBVgt-1~15, HBVgt-19~20)、3 倍濃度 (300 IU/mL, HBVgt-21~35)、陰性血漿 (HBVgt-16, HBVgt-36) 及び参考として目標感度の 0.3 倍濃度 (30 IU/mL, HBVgt-17~18) の検体からなるパネルを調製し、ブラインド化して参加者に送付した。

\*: HCV 抗体, HBs 抗原, HIV-1/2 抗体, 3 ウイルスの NAT 全てが陰性。

3) 測定

(1) 分画製剤製造所等はコバス TaqScreen MPX v2.0 (ロシュ・ダイアグノスティック株式会社)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。参加施設は HBVgt-1~20 を日を変えて 2 回、HBVgt-21~36 を 1 回測定した。

(2) 輸血用血液製剤の NAT 実施施設は 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。この試験法は個別検体のスクリーニング試験 (3 ウイルスを識別しない) 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。参加施設はスクリーニング試験と HBV 識別試験の両方の試験法を用いて各々 HBVgt-1~20 を日を変えて 2 回と、HBVgt-21~36 を 1 回測定した。

#### 4) 結果

##### (1) 血漿分画製剤の原料血漿プールの NAT (表 3)

わが国で使用する血漿分画製剤製造所等の原料血漿プールの NAT を実施する全 5 施設 (国内 3, 海外 2) 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、HBV に関する精度管理が適切に実施されていた。また、全施設において Genotype A、B、C、D、E、F 及び G の HBV を見逃し無く検出できることを確認した。不成立の測定は無く、偽陽性も無かった。

##### (2) 輸血用血液製剤の NAT (表 4、5)

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 HBV 確認試験法の両方において HBV 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 Genotype A、B、C、D、E、F 及び G の HBV を見逃し無く検出できることを確認した。偽陽性は無かったが、機器のエラーによる測定不成立が 4 件あった (試薬吐出異常検知 3 件、装置と制御用 PC の通信エラー 1 件)。通信エラー 1 件については多数検体の測定が不成立であったのでパネルを再交付して再測定を実施し、すべての検体を正しく測定できた。

陰性対照はすべて陰性と判定された。

#### 3. 考察

輸血用血液の NAT スクリーニングを実施する異なる施設において、機器のエラーによる測定不成立が 4 件あった (試薬吐出異常検知 3 件、装置と制御用 PC の通信エラー 1 件)。日本赤十字社に、日常の測定における機器エラーによる測定不成立の発生頻度を確認したところ、全国で 1 日あたり 10 件ほど発生している状況で、今回発生した試薬吐出時の異常検知を含め、GMP 機能に由来する測定不能が 9 割を占めるとの回答であった。機器エラーの対応策については、PANTHER 導入以降、全機台においてエラーのモニタリングを継続しており、さらに、機器メーカーと定期連絡会を開催してエラーの情報共有を行い、部品やソフトウェアの変更等、改善に向けて取り組んでおり、平成 28 年度の機器エラー発生件数は、平成 27 年度と比較して約 20%減少しているとのことであった。現状の改善に向けた取り組みを今後も継続していくことを期待する。

今回の NAT サーベイにて、分画製剤製造所、日本赤十字社ブロック血液センターとともに、マルチプレックス法を更新後も全施設において HBV に関する精度管理が適切に実施され、Genotype A, B, C, D, E, F 及び G の HBV を見逃し無く検出できることを確認できた。今後 HIV および HCV についても遺伝子型パネルを準備し、特異性の実情把握を目的とした NAT サーベイを実施していく方針である。

#### 4. 2017 年度の実施計画（表 6）

新しいマルチプレックス法における HIV-NAT の特異性の実情把握を目的として WHO HIV サブタイプパネルを用いた第 9 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と HIV 確認試験を対象として実施する。

#### 5. 2018 年度の実施計画（表 7）

新しいマルチプレックス法における HIV-NAT の特異性の実情把握を目的として WHO HIV サブタイプパネルを用いた第 10 回 NAT コントロールサーベイを、原料血漿プールの NAT を対象として実施する。

# 表1: 参加施設一覧

血漿分画製剤製造所等	日本赤十字社
一般社団法人 日本血液製剤機構	北海道ブロック血液センター
一般財団法人 化学及血清療法研究所	東北ブロック血液センター
日本製薬株式会社	関東甲信越ブロック血液センター
バクスアルタ株式会社	関東甲信越ブロック血液センター 埼玉製造所
CSLベーリング株式会社	東海北陸ブロック血液センター
以上5施設	近畿ブロック血液センター
オブザーバー参加施設	中四国ブロック血液センター
ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社	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
	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: HBV遺伝子型パネル

パネル検体 HBVgt-1~20 : 100 IU/mL(95%DL)  
日を変えて2回測定

パネル検体 HBVgt-21~36 : 300 IU/mL(95%DL x 3)  
1回測定

検体番号	試料 WHO/(ネル検体等)	由来	遺伝子型	濃度 (IU/mL)
HBVgt-1	1/A	S Africa	A	100
HBVgt-2	2/A	Brazil	A	100
HBVgt-3	3/A	Germany	A	100
HBVgt-4	4/B	Japan	B	100
HBVgt-5	5/B	Japan	B	100
HBVgt-7	7/C	Japan	C	100
HBVgt-8	8/C	Japan	C	100
HBVgt-9	9/C	Russia	C	100
HBVgt-10	10/D	Germany	D	100
HBVgt-11	11/D	S Africa	D	100
HBVgt-12	12/D	Iran	D	100
HBVgt-13	13/E	W Africa	E	100
HBVgt-14	14/F	Brazil	F	100
HBVgt-6	国際標準品		A	100
HBVgt-15	国内標準品		C	100
HBVgt-16	陰性血漿		-	-
HBVgt-17	国際標準品		A	30
HBVgt-18	国内標準品		C	30
HBVgt-19	6/B	Viet Nam	B	100
HBVgt-20	15/G	Germany	G	100
合計20本				

検体番号	試料 WHO/(ネル検体等)	由来	遺伝子型	濃度 (IU/mL)
HBVgt-21	1/A	S. Africa	A	300
HBVgt-22	2/A	Brazil	A	300
HBVgt-23	3/A	Germany	A	300
HBVgt-24	4/B	Japan	B	300
HBVgt-25	5/B	Japan	B	300
HBVgt-27	7/C	Japan	C	300
HBVgt-28	8/C	Japan	C	300
HBVgt-29	9/C	Russia	C	300
HBVgt-30	10/D	Germany	D	300
HBVgt-31	11/D	S Africa	D	300
HBVgt-32	12/D	Iran	D	300
HBVgt-33	13/E	W Africa	E	300
HBVgt-34	14/F	Brazil	F	300
HBVgt-26	国際標準品		A	300
HBVgt-35	国内標準品		C	300
HBVgt-36	陰性血漿		-	-
合計16本				

但し、HBVgt-17~HBVgt-20の4検体の測定結果は参考値とし、全体の実情把握に反映させる場合があるが、施設ごとの評価には使用しない。  
HBVgt-19とHBVgt-20は原料パネルの濃度が低かったため、濃度300 IU/mLの検体を調製することが出来なかったため、濃度100 IU/mLの検体のみ配布することとした。

表3: 血漿分画製剤の原料血漿プールのNAT  
参加5施設全体のHBV検出数/測定数

試料 WHOパネル検体等	遺伝子型	検体番号	濃度 (IU/mL)	検出数/測定数		検体番号	濃度 (IU/mL)	検出数/測定数	
				初回測定	再測定			初回測定	再測定
1/A	A	HBVgt-1	100	10/10	再測定無し	HBVgt-21	300	5/5	再測定無し
2/A	A	HBVgt-2	100	10/10		HBVgt-22	300	5/5	
3/A	A	HBVgt-3	100	10/10		HBVgt-23	300	5/5	
4/B	B	HBVgt-4	100	10/10		HBVgt-24	300	5/5	
5/B	B	HBVgt-5	100	10/10		HBVgt-25	300	5/5	
7/C	C	HBVgt-7	100	10/10		HBVgt-27	300	5/5	
8/C	C	HBVgt-8	100	10/10		HBVgt-28	300	5/5	
9/C	C	HBVgt-9	100	10/10		HBVgt-29	300	5/5	
10/D	D	HBVgt-10	100	10/10		HBVgt-30	300	5/5	
11/D	D	HBVgt-11	100	10/10		HBVgt-31	300	5/5	
12/D	D	HBVgt-12	100	10/10		HBVgt-32	300	5/5	
13/E	E	HBVgt-13	100	10/10		HBVgt-33	300	5/5	
14/F	F	HBVgt-14	100	10/10		HBVgt-34	300	5/5	
国際標準品	A	HBVgt-6	100	10/10		HBVgt-26	300	5/5	
国内標準品	C	HBVgt-15	100	10/10		HBVgt-35	300	5/5	
陰性血漿	-	HBVgt-16	-	0/10		HBVgt-36	-	0/5	
国際標準品	A	HBVgt-17	30	10/10					
国内標準品	C	HBVgt-18	30	10/10					
6/B	B	HBVgt-19	100	10/10					
15/G	G	HBVgt-20	100	10/10					

HBVgt-17～HBVgt-20の4検体の測定結果は参考値とし、全体の実情把握に反映させる場合があるが、施設ごとの評価には使用しない。HBVgt-19とHBVgt-20は原料パネルの濃度が低かったため、濃度300 IU/mLの検体を調製することが出来なかったため、濃度100 IU/mLの検体のみ配布することとした。

表4: 輸血用血液のNAT(スクリーニング試験法)  
参加8施設全体のHBV検出数/測定数

試料 WHOパネル検体等	遺伝子型	検体番号	濃度 (IU/mL)	検出回数/測定回数		検体番号	濃度 (IU/mL)	検出回数/測定回数	
				初回測定	再測定			初回測定	再測定
1/A	A	HBVgt-1	100	16/16	再測定無し	HBVgt-21	300	7/7	8/8
2/A	A	HBVgt-2	100	16/16		HBVgt-22	300	7/7	8/8
3/A	A	HBVgt-3	100	16/16		HBVgt-23	300	7/7	8/8
4/B	B	HBVgt-4	100	16/16		HBVgt-24	300	7/7	8/8
5/B	B	HBVgt-5	100	15/15		HBVgt-25	300	7/7	8/8
7/C	C	HBVgt-7	100	16/16		HBVgt-27	300	7/7	8/8
8/C	C	HBVgt-8	100	16/16		HBVgt-28	300	7/7	8/8
9/C	C	HBVgt-9	100	16/16		HBVgt-29	300	7/7	8/8
10/D	D	HBVgt-10	100	16/16		HBVgt-30	300	7/7	8/8
11/D	D	HBVgt-11	100	16/16		HBVgt-31	300	7/7	8/8
12/D	D	HBVgt-12	100	16/16		HBVgt-32	300	7/7	8/8
13/E	E	HBVgt-13	100	16/16		HBVgt-33	300	7/7	8/8
14/F	F	HBVgt-14	100	16/16		HBVgt-34	300	7/7	8/8
国際標準品	A	HBVgt-6	100	16/16		HBVgt-26	300	7/7	8/8
国内標準品	C	HBVgt-15	100	15/15		HBVgt-35	300	7/7	8/8
陰性血漿	-	HBVgt-16	-	0/16		HBVgt-36	-	0/7	0/8
国際標準品	A	HBVgt-17	30	16/16					
国内標準品	C	HBVgt-18	30	15/15					
6/B	B	HBVgt-19	100	16/16					
15/G	G	HBVgt-20	100	16/16					

但し、HBVgt-17～HBVgt-20の4検体の測定結果は参考値とし、全体の実情把握に反映させる場合があるが、施設ごとの評価には使用しない。HBVgt-19とHBVgt-20は原料パネルの濃度が低かったため、濃度300 IU/mLの検体を調製することが出来なかったため、濃度100 IU/mLの検体のみ配布することとした。

## 表5: 輸血用血液のNAT (HBV識別試験法) 参加8施設全体のHBV検出数/測定数

試料 WHOパネル検体等	遺伝子型	検体番号	濃度 (IU/mL)	検出回数/測定回数		検体番号	濃度 (IU/mL)	検出回数/測定回数	
				初回測定	再測定			初回測定	再測定
1/A	A	HBVgt-1	100	16/16	再試験無し	HBVgt-21	300	7/7	8/8
2/A	A	HBVgt-2	100	16/16		HBVgt-22	300	7/7	8/8
3/A	A	HBVgt-3	100	16/16		HBVgt-23	300	7/7	8/8
4/B	B	HBVgt-4	100	16/16		HBVgt-24	300	7/7	8/8
5/B	B	HBVgt-5	100	16/16		HBVgt-25	300	7/7	8/8
7/C	C	HBVgt-7	100	16/16		HBVgt-27	300	7/7	8/8
8/C	C	HBVgt-8	100	16/16		HBVgt-28	300	7/7	8/8
9/C	C	HBVgt-9	100	16/16		HBVgt-29	300	7/7	8/8
10/D	D	HBVgt-10	100	16/16		HBVgt-30	300	7/7	8/8
11/D	D	HBVgt-11	100	16/16		HBVgt-31	300	7/7	8/8
12/D	D	HBVgt-12	100	16/16		HBVgt-32	300	7/7	8/8
13/E	E	HBVgt-13	100	16/16		HBVgt-33	300	7/7	8/8
14/F	F	HBVgt-14	100	16/16		HBVgt-34	300	7/7	8/8
国際標準品	A	HBVgt-6	100	16/16		HBVgt-26	300	7/7	8/8
国内標準品	C	HBVgt-15	100	16/16		HBVgt-35	300	7/7	8/8
陰性血漿	-	HBVgt-16	-	0/16		HBVgt-36	-	0/7	0/8
国際標準品	A	HBVgt-17	30	16/16					
国内標準品	C	HBVgt-18	30	16/16					
6/B	B	HBVgt-19	100	16/16					
15/G	G	HBVgt-20	100	16/16					

但し、HBVgt-17～HBVgt-20の4検体の測定結果は参考値とし、全体の実情把握に反映させる場合があるが、施設ごとの評価には使用しない。  
HBVgt-19とHBVgt-20は原料パネルの濃度が低かったため、濃度300 IU/mLの検体を調製することが出来なかったため、濃度100 IU/mLの検体のみ配布することとした。

## 表6: HIVサブタイプパネル(案)

日を変えて2回測定

No.		subtype	IU/mL
1	HIV subtype panel (WHO international Reference Panel)	A	200
2		B	200
3		C	200
4		D	200
5		AE	200
6		F	200
7		G	200
8		AG-GH	200
9		N	200
10		O	200
11	3rd HIV-1 IS	B	200
12			50
13	1st HIV-1 JS	B	200
14			50
15	1st HIV-2 IS		200
16	陰性血漿		(-)

12, 14, 15 の検体の測定結果は参考値とし、全体の実情把握に反映させる場合があるが、施設ごとの評価には使用しない。



## 表7:HIVサブタイプパネル(案)

日を変えて2回測定

No.		subtype	IU/mL
1	HIV subtype panel (WHO international Reference Panel)	A	100
2		B	100
3		C	100
4		D	100
5		AE	100
6		F	100
7		G	100
8		AG-GH	100
9		N	100
10		O	100
11	3rd HIV-1 IS	B	100
12			50
13	1st HIV-1 JS	B	100
14			50
15	1st HIV-2 IS		100
16	陰性血漿		(-)

12, 14, 15の検体の測定結果は参考値とし、全体の実情把握に反映させる場合があるが、施設ごとの評価には使用しない。