

NATコントロールサーベイの結果について

【目的】 各施設において実施されているNAT精度管理について全体の実態を把握し、必要に応じて試験の改良や今後の規制の要件を明らかにする。

【対象】 国内でNATガイドラインに基づいてバリデートされている試験法。HBV については10機関20アッセイ*、HCV及びHIVについては8機関15アッセイ**。

* HBVについては公的機関1機関1アッセイ、国内製造販売業者7社14アッセイ、試薬メーカー2社5アッセイ。

** HCV及びHIVについては公的機関1機関1アッセイ、国内製造販売業者6社12アッセイ、試薬メーカー1社2アッセイ。

【材料】 国立感染症研究所がHBV、HCV、HIVそれぞれの国内標準品を血漿で希釈して、濃度の異なる7陽性検体と1陰性検体の8検体*からなる希釈系列パネルを作成したものを、厚生労働科学研究班が**参加各施設にブラインド化した検体3組を送付した。

* 希釈濃度は10,000, 3,000, 1,000, 300, 100, 30, 10, 0 (IU/ml)

** 厚生労働科学研究「血液製剤の安全性向上のために実施される肝炎ウイルス等検査法の精度管理評価に関する研究」班(研究代表者 水澤左衛子)

【方法】 各参加施設においては、NATガイドラインに基づいてバリデートされている試験法(一部、複数の試験法を実施)を用いて、日を変えて3回測定した。NATガイドラインにおいては、プール血漿において、100(IU/ml)が検出可能となるよう精度管理が求められていることから、評価は頑健性を担保する3倍量である300(IU/ml)とし、個別に100(IU/ml)の検出率を加味した。検出率は、総アッセイ数#(アッセイ数×試験回数)のうち検出できた回数の割合とした。

総アッセイ数は、HBVについては、60、HCV及びHIVについては、45。

【結果】 1. 1,000, 3,000, 10,000(IU/ml)の検体検出率はHBV60/60(100%)、HCV45/45(100%)、HIV45/45(100%)であった。0(IU/ml)の検体検出率はHBV0/60(0%)、HCV0/45(0%)、HIV0/45(0%)であった。

2. 目標とする100(IU/ml)の3倍に相当する300(IU/ml)の検体検出率はHBV60/60(100%)、HCV45/45(100%)、HIV44/45(98%)であった。

3. HIVについては1アッセイにおいて300(IU/ml)の検出率が2/3であったが、100(IU/ml)の検出率も2/3であった。

4. なお、100(IU/ml)の検体検出率はHBV60/60(100%)、HCV44/45(98%)、HIV37/45(82%)であった。

【まとめ】 以上の結果から、全施設において95%が陽性と判断できる検出感度は目標とする100(IU/ml)であると推定できることから、NATの精度管理は達成されていると判断した。

NAT コントロールサーベイに使用した核酸増幅試験のための国内標準品

国内標準品名	力価	Genotype 等
HBV-DNA 国内標準品(HBV-129)	4.3×10^5 国際単位/mL	Genotype C
HCV-RNA 国内標準品(HCV-122)	1.0×10^5 国際単位/mL	Genotype 1b
HIV-RNA 国内標準品(HIV-00047)	1.8×10^5 国際単位/mL	Subtype B

国内標準品の性状等: HBs 抗原陰性、HCV 抗体陰性、HIV 抗体陰性の脱クリオプール血漿で希釈、0.5mL ずつガラス瓶に分注し、-80度に凍結保存。

平成21年5月14日
血液事業部会委員
血液事業部会運営委員会委員
山口 照 英

HIV-RNA 国内標準品(HIV-00047)及び
HBV-DNA 国内標準品(HBV-129)の力価の訂正について

本標準品は血液事業部会安全技術調査会血漿分画製剤の安全性確保対策の検討小委員会（NAT 小委員会）が共同研究を実施して作製し、平成16年の血液事業部会で国内標準品として報告したものです。

しかし、その後、学術雑誌上で公表するために共同研究の解析結果を精査したところ、統計処理の過程で誤りのあることが判明いたしました。このために下記のとおり力価を訂正しております。なお既に力価の変更については、血液事業部会安全技術調査会血漿分画製剤の安全性確保対策の検討小委員会の構成員及び参考人である血漿分画製剤製造販売業者の了承を得ております。

記

国内標準品	訂正前	訂正後
HIV-RNA 国内標準品(HIV-00047)	1.4x10 ⁵ 国際単位/mL	1.8x10 ⁵ 国際単位/mL
HBV-DNA 国内標準品(HBV-129)	4.4x10 ⁵ 国際単位/mL	4.3x10 ⁵ 国際単位/mL

詳細は以下のページをご覧ください。

以上

HIV RNA 国内標準品候補品 (HIV-00047) の力価訂正

国立感染症研究所
血液・安全性研究部

国内標準品 候補品	HIV-00047: HIV-1 subtype B. HBs 抗原陰性、HCV 抗体陰性、HIV 抗体陰性の脱クリオプール血漿で希釈、分注、-80度凍結保存。
標準品	WHO国際標準品 (97/656) . HIV-1 subtype B, p24 抗原陽性, HIV 抗体陰性. 10万国際単位/バイアル (10万国際単位/mL)
測定	次の1又は2のいずれかの方法で測定した。 1.エンドポイント法：定性的核酸増幅法を用いて日を変えて5回測定を実施した。1回目は10倍希釈系列で測定しておよそのエンドポイントを求めた。2回目以降はそのエンドポイントを挟んで7段階の10 ^{-0.5} 倍希釈系列で4回測定した。 2.定量的核酸増幅法：予備的な測定を行った上で、標準品と候補品をそれぞれ3倍希釈した試料を用いて2～5重測定で日を変えて3回測定した。
参加施設等	9研究機関に試料を配布し、7研究機関から8組の測定結果が返送された。この7研究機関を1～8のコード番号であらわす(4は欠番)。研究機関8は定量的核酸増幅法で、他の研究機関はエンドポイント法で測定した。研究機関5からは測定法の異なる2組の測定結果が返送された。研究機関1と3は二重測定を行った。
分析	研究機関1～7の7組の測定結果のエンドポイントを分析した。二重測定の結果は独立した8回の測定結果として分析した。測定結果が①～③のような不連続な陽性結果が得られた場合は陽性と示した希釈倍率をエンドポイントとした。①を含むデータセットは希釈倍率の低いエンドポイント(Low)について分析した。研究機関8の測定値については、測定日毎に標準品に対する相対値を求めて、さらにその平均値を相対力価とした。 <div style="display: flex; justify-content: space-around;"> (測定結果) → (分析に用いたエンドポイント) </div> <p>①陽性 陽性 陰性 陽性 陰性 → 陽性 陽性 陰性 陽性 陰性 ②陽性 陽性 陰性 陰性 陽性 → 陽性 陽性 陰性 陰性 陽性 ③陽性 陰性 陽性 陽性 陰性 → 陽性 陰性 陽性 陽性 陰性 陰性 陰性 陽性 陽性 陰性 → 陰性 陰性 陽性 陽性 陰性</p>
結果	3ページ

図1. エンドポイント法によるHIV-00047のHIV国際標準品(97/656)に対する相対値

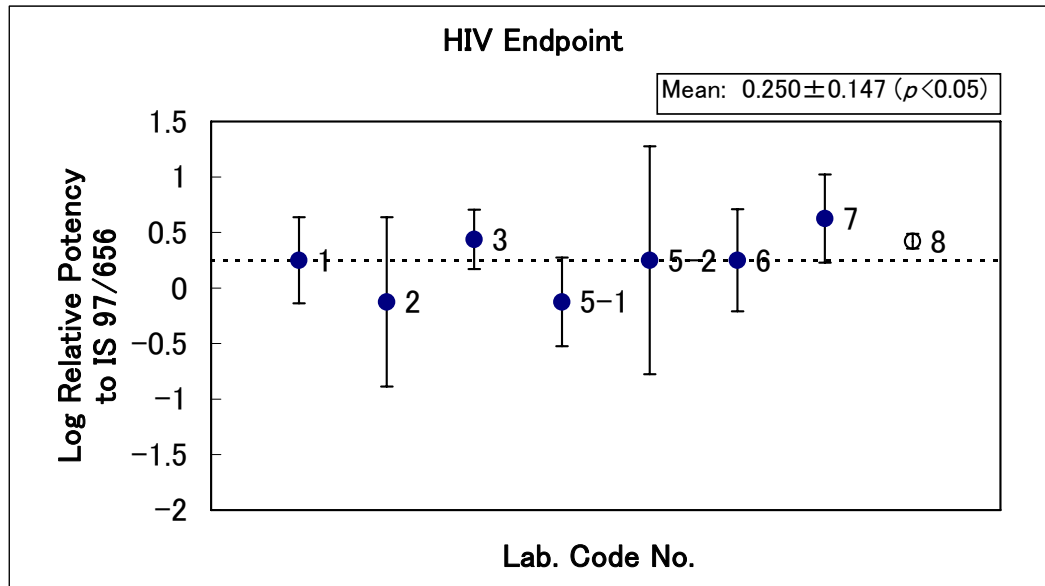


表1. エンドポイント法によるHIV-00047のHIV国際標準品(97/656)に対する相対値

a) Log				b) Anti-log			
施設	平均	95%信頼区間		施設	平均	95%信頼区間	
1	0.250	-0.137	0.637	1	1.778	0.729	4.335
2	-0.125	-0.887	0.637	2	0.750	0.130	4.333
3	0.438	0.170	0.705	3	2.738	1.478	5.074
5-1	-0.125	-0.523	0.273	5-1	0.750	0.300	1.874
5-2	0.250	-0.777	1.277	5-2	1.778	0.167	18.929
6	0.250	-0.209	0.709	6	1.778	0.618	5.121
7	0.625	0.227	1.023	7	4.217	1.687	10.539
8	0.422	0.355	0.488	8	2.640	2.267	3.076
平均	0.250	0.101	0.399	平均	1.778	1.263	2.504

**：定量的測定法
平均：**を除外して計算

c) HIV国内標準品候補(HIV-00047)の力価の推定値

平均	WHO国際標準品(97/656)に対する相対値	国際単位/mL
Log	0.250 (0.101 - 0.399)	$10^{5.25}$
Anti-log	1.778 (1.263 - 2.504)	1.8×10^5

HBV DNA 国内標準品候補品 (HBV-129) の力価訂正

国立感染症研究所
血液・安全性研究部

国内標準品 候補品	HBV-129: HBsAg serotype adr. Genotype C. HBs 抗原陰性、HCV 抗体陰性、HIV 抗体陰性の脱クリオプール血漿で 希釈、分注、-80度凍結保存。
標準品	WHO国際標準品 (97/746) . HBsAg serotype adw. Genotype A. 5x10 ⁵ 国際単位/バイアル (100万国際単位/mL)
測定	実験計画に従って、7段階の 10 ^{-0.5} 倍希釈系列を日を変えて4回エンド ポイント法で測定した。
参加施設等	9 研究機関に試料を配布し、8 研究機関から9組の測定結果が返送され た。この8 研究機関を1～8のコード番号であらわす。研究機関5から は測定法の異なる2組の測定結果が返送された。研究機関1、3、4は二 重測定を行った。研究機関8は候補品のみ2回測定した。
分析	研究機関1～7の8組の測定結果のエンドポイントを分析した。二重測 定の結果は独立した8回の測定結果として分析した。測定結果が①～③ のような不連続な陽性結果が得られた場合は陽性と示した希釈倍率をエ ンドポイントとした。 <div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;">(測定結果) →</div> <div style="text-align: center;">(分析に用いたエンドポイント)</div> </div> <p>①陽性 陽性 陰性 陽性 陰性→ 陽性 陽性 陰性 陽性 陰性 ②陽性 陽性 陰性 陰性 陽性→ 陽性 陽性 陰性 陰性 陽性 ③陽性 陰性 陽性 陽性 陰性→ 陽性 陰性 陽性 陽性 陰性 陰性 陰性 陽性 陽性 陰性→ 陰性 陰性 陽性 陽性 陰性</p>
結果	5 ページ

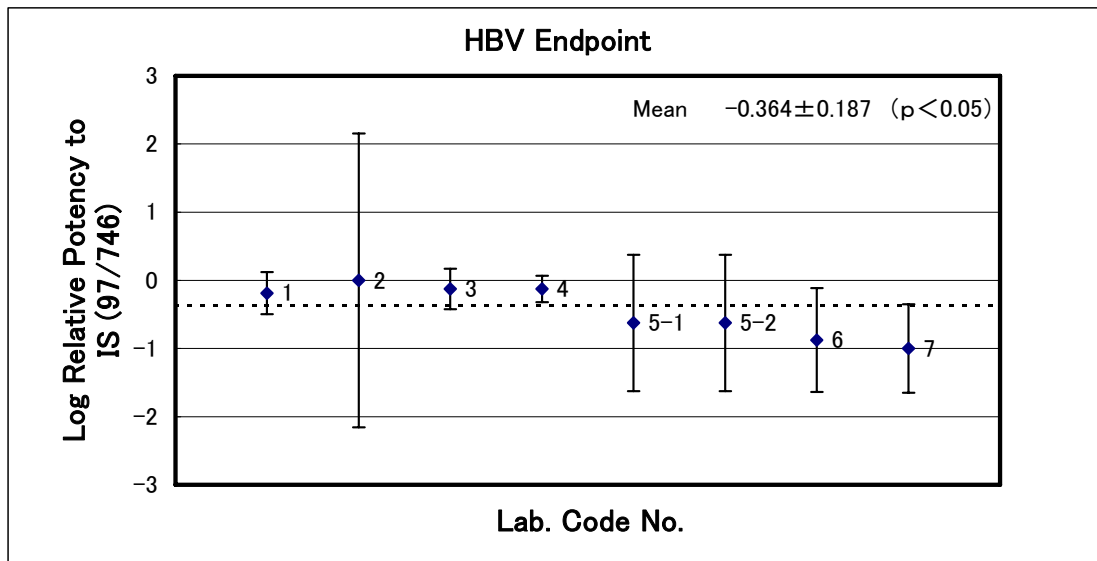


表2. エンドポイント法によるHBV-129のHBV国際標準品(97/746)に対する相対値

a) Log			b) Anti-log		
施設	平均	95%信頼区間	施設	平均	95%信頼区間
1	-0.188 (-0.499 - 0.124)	1	0.649 (0.317 - 1.329)
2	0.000 (-2.155 - 2.155)	2	1.000 (0.007 - 142.734)
3	-0.125 (-0.421 - 0.171)	3	0.750 (0.380 - 1.481)
4	-0.125 (-0.319 - 0.069)	4	0.750 (0.480 - 1.171)
5-1	-0.625 (-1.626 - 0.376)	5-1	0.237 (0.024 - 2.378)
5-2	-0.625 (-1.626 - 0.376)	5-2	0.237 (0.024 - 2.378)
6	-0.875 (-1.637 - -0.113)	6	0.133 (0.023 - 0.770)
7	-1.000 (-1.650 - -0.350)	7	0.100 (0.022 - 0.446)
平均	-0.364 (-0.550 - -0.177)	平均	0.433 (0.282 - 0.665)

c) HBV国内標準品候補(HBV-129)の力価

	WHO国際標準品(97/746)に対する相対値	国際単位/mL
Mean	-0.364 (-0.550 - -0.177)	$10^{5.64}$
Anti-log	0.433 (0.282 - 0.665)	4.3×10^5