

薬事・食品衛生審議会  
血液事業部会 安全技術調査会

平成 22 年 6 月 23 日  
国立感染症研究所 血液・安全性研究部  
主任研究官 水澤 左衛子

### 諸外国における NAT 検出感度について

厚生労働省「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」（代表者：水澤左衛子 国立感染症研究所）平成 20 - 21 年度報告より

#### <概要>

血液製剤を介した肝炎等ウイルス感染にかかわる安全性確保対策は社会的に重要な課題である。国の基準に基づいて採血した献血血液を複数の病源体について抗原・抗体検査を実施し、さらに、「NAT ガイドライン」に基づいて、C 型肝炎ウイルス (HCV)、B 型肝炎ウイルス (HBV) ヒト免疫不全ウイルス (HIV) について核酸増幅試験 (NAT) を実施して、抗原・抗体検査のウィンドウ期の血液を排除している。血漿分画製剤は数千～数万人分の血漿をプールしたものを原料としている。製造所は原料血漿プールの HCV、HBV 及び HIV についての NAT を実施しているが、4 課長通知で検出感度の目標を 100 国際単位 (IU) /mL としている。一方、輸血を受けた患者さんが万一これらのウイルスに感染した場合の早期発見と原因究明のために、輸血後にウイルス検査をすることになっており、HBV 検査として NAT を実施している（遡及調査のガイドライン）。薬事・食品衛生審議会血液事業部会の指示に基づいて、平成 17 年度から厚生労働科学研究費補助金によって、これらの施設で実施されている NAT の精度管理の実情を把握する目的でコントロールサーベイを実施してきた。すでに、HCV と HBV については全ての施設において NAT の感度が適切であることを確認した。

本研究において、平成 20 年度には HIV-NAT の感度パネルを用いたコントロールサーベイによって血漿分画製剤製造所と輸血用血液の NAT スクリーニング施設において 100IU/mL を 95% 検出すべく NAT の精度管理が実施されていることを確認した。平成 21 年度には次の段階として HBV の遺伝子型パネルを用いたコントロールサーベイを実施し、対象施設である血漿分画製剤製造所と輸血用血液の NAT スクリーニング施設及び衛生検査所のいずれの施設が実施した測定によっても遺伝子型にかかわらず HBV-DNA を検出あるいは定量できることを確認した。以上の結果は既に平成 21 年度第一回及び第三回血液事業部会運営委員会に報告した。

ところで、上述の通り、4 課長通知では血漿分画製剤製造販売業者等が原料血漿プールで実施する 3 つのウイルスの NAT の検出感度を 100IU/mL としている。一方、輸血用血液のスクリーニング検査の HCV-NAT の検出感度については、NAT ガイドラインにより 5000IU/mL の個別の陽性血漿を検出できる試験法で行うこととされ、HBV-NAT と HIV-NAT については別途定めることとして実質上 HCV-NAT の感度を準用してきた。EU と日本において

HCV-NAT の感度を個別の陽性血漿で 5000IU/mL としたのは、NAT 導入当時において 50 人ミニプールを検出感度 100IU/ml の試験法で検査するのが現実的な方法との実情を反映させたものである。

今般、本研究班の活動の一環として、輸血用血液の HIV-NAT スクリーニング検査の感度についてドイツ PEI と米国 FDA の関係者から資料を入手して比較検討した（表 1）。ドイツでは 2003 年の通告—核酸増幅法による HIV-1-RNA 定量検査に関する命令—において「使用する検査方法は個別の供血について HIV-1-RNA 量 10,000IU/mL 以上を確実に判定できるものでなければならない」と定め、自社の試験の適格性を実証するために PEI が年一回実施するラウンドロビン試験に参加することを義務付けている（「連邦官報第 103 号 12269 頁」）。FDA は公式の文書はないものの、FDA が個別の供血の検査のために作製した HIV-1-RNA 標準品は 10,000IU/mL である（第 17 回 SoGAT 会議、2004 年パリ、発表資料）。英国においては HCV-NAT のみ実施が定められている。HBV-NAT は NAT ガイドラインと遡及調査ガイドラインに基づいてわが国独自に実施している NAT であり、諸外国においては事業者の自主的な実施に委ねられている。

表 1 日本及び諸外国における血液製剤のウイルス安全性確保を目的とした NAT 試験に求められる検出感度の比較

国名	血漿分画製剤の原料血漿プール			輸血用血液（個別）		
	HCV-RNA	HIV-RNA	HBV-DNA	HCV-RNA	HIV-RNA	HBV-DNA
日本	100	100	100	5000	実施	実施
アメリカ	100	100	NM	5000	10000	NM
ドイツ				5000	10000	NM
イギリス	100	NM	NM	5000	NM	NM

(国際単位/mL)

NM: 法的に求められていない

厚生労働省「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」（代表者：水澤左衛子 国立感染症研究所）平成20-21年度報告書より

---

2003年5月6日に Paul-Ehrlich-Institut が発した通告「核酸増幅法によるHIV-1-RNA定量検査に関する命令」を邦訳したので紹介する。原文は後ろに添付した文書を参考にされたい。この邦訳について無断転載・複製を禁じる。

---

連邦官報  
第103号 12269頁

2003年5月6日

血清・予防接種庁  
Paul-Ehrlich-Institut（パウル・エーリッヒ研究所）

医薬品の認可・登録に関する通告  
（細胞成分含有血液製剤ならびに新鮮凍結血漿を介した HIV-1 感染のリスク低減）  
－核酸増幅法による HIV-1-RNA 定量検査に関する命令－

2003年5月6日

2001年4月23日に Paul-Ehrlich-Institut が実施した書面による意見聴取の結果（「連邦官報」9506頁）を受け、措置に関する命令を取り下げたうえで、製造業者に対して自家試験法の能力をラウンドロビン試験で実証できる機会を与えることとする（2001年8月27日付「連邦官報」19365頁「通告」を参照）。これに伴い、細胞成分含有血液製剤ならびに新鮮凍結血漿を上市する製造業者を対象に、下記の決定事項の遵守を求める。

決定事項

1. 2004年4月30日以降に上市される細胞成分含有血液製剤ならびに新鮮凍結血漿には、ポリメラーゼ鎖反応（以下 PCR）等の適切な核酸増幅法（以下 NAT）でヒト免疫不全ウイルス1型（以下 HIV-1）ゲノムが検出されなかった供血者の血液を使用する。なお、凍結成分製剤については、当該製剤の製造に使用された血液の代わりに、同一供血者から続いて採取された血液（検体）を検査対象としてもよい。使用する検査方法は、個別の供血について HIV-1-RNA 量 10,000 IU/mL 以上を確実に判定できるものでなければならない（標準品：HIV-1-RNA 量に関する WHO 標準品 [97/656] で  $10^5$  IU/mL）。

2. プラズマフェレーシスにより調製され貯留保管された新鮮凍結血漿に関する事項として、血液検体はその供血者から遅くとも3ヵ月後に採取され、かつ上記の標準品に従って HIV-1 の NAT で陰性が確認されている限り、HIV-1 の NAT 以外の方法で検査した供血も使用可とする。

3. 自家試験法については、下記の諸条件を充足しているものとする。

a) CPMP（欧州医薬品委員会）指針「分析手順のバリデーションに関するガイダンス文書『手法』（CPMP/ICH/281/95）ならびに「分析方法のバリデーションに関するガイダンス文書『定義と専門用語』（CPMP/ICH/381/95）に従って標準品でバリデーションされていること。この場合、HIV-1 の NAT に関するバリデーションは、HCV の NAT に関する勧告事項（<http://www.pei.de/downloads/loadlink.htm>）に従って実施されていなければならない。当該勧告事項から逸脱する場合には、検査の手順が実質的に同等であり適格性に問題ない旨明示しておく。NAT のバリデーションに関する資料は、2003年12月1日までに検査開始に先立ち Paul-Ehrlich-Institut に提出する。

b) 自家試験法の適格性については、Paul-Ehrlich-Institut が指定するラウンドロビン試験のうち1法で実証し、さらに Paul-Ehrlich-Institut が指定する別のラウンドロビン試験（1年毎の予定）で確認されなければならない。

4. 本要件に関する命令にかかる費用については定めない。

## I

上掲の諸要件に関する命令は、輸血を介した HIV 感染リスクの低減を目的として、薬事法第28条第3項cに従って実施する。HIV 感染者は AIDS に移行することが多く、高度の治療方法が実践可能であるにもかかわらず、その致死率は今なお高い。したがって、輸血を介した HIV 感染リスクを低減できる方法があれば、技術的な問題がない限り、速やかに導入することが原則となる。細胞成分含有血液製剤の場合、不活化が未実施なので、供血者の感染が抗体検査で抗体産生を検出できるレベルに到達していない（すなわちウィンドウピリオド）のであれば、HIV 感染が伝播するリスクは否定できない。現在、供血スクリーニングに NAT を導入することで、供血1単位あたりの HIV-1 量として 10,000 IU/mL 以上を検出することが技術的に可能となっており、HIV 感染の点からみた供血の安全性を向上させるうえで有用である。

「感染初期におけるウイルス血症の経過」「HIV-RNA の検出によってウィンドウピリオドを短縮できる可能性」について Paul-Ehrlich-Institut が公表した調査結果は、他の研究グルー

プによって裏づけられている (M. P. Busch 「HIV、HBV および HCV : 輸血の安全性に関する新たな展開」 Vox Sang 2000; 78 (suppl. 2)) 253-256)。その後、HIV-1 の NAT により、血清学的検査法で診断されるウィンドウピリオドを平均 15 日間まで短縮することが可能となった。HIV の増殖速度が HCV に比べて低いため、感染初期のウイルス量は低い、ウィンドウピリオド終了時には  $10^7$  コピー/mL の RNA が検出される。

1997 年、Paul-Ehrlich-Institut では、濃厚赤血球液を製造する製造業者を対象に、HBV、HCV、HIV-1 ゲノムの供血者スクリーニング方法として NAT を導入することについての意見聴取を行った。当時は HIV-1-RNA の検出に適した市販の検査系がなく、また HIV-1-RNA 国際標準品も確立されていなかったことから、HIV-1-RNA の NAT の実施はされなかった。

その後、Paul-Ehrlich-Institut には「供血が血清学的検査で陰性を示していたにもかかわらず、これを原料とする細胞成分含有血液製剤から HIV 感染が発生した事例」として 4 件の報告が寄せられた。しかし、保存検体中の HIV-1 を NAT で定量化したところ、そのウイルス量はいずれの事例でも相対的に高かった (HIV-1-RNA 量は 17,000 コピー/mL、25,000 コピー/mL、さらに 2 件は 75,000 コピー/mL 以上。HIV-1-RNA 量の 1 コピーは約 2 IU に相当)。

現在、ドイツ国内で上市されている血液製剤の約 70%については、製造した製造業者が自主的に HIV の NAT を実施している。1997 年以降、供血が本法で HIV-1 陽性を示して不合格となった事例は 5 件以上にのぼる。

## II

現時点では、個別供血検体あたりの HIV-1-RNA 量として 10,000 IU/mL (RNA 量 約 5,000 コピー/mL に相当) 以上の検出感度をもつ NAT を導入すれば、Paul-Ehrlich-Institut に報告される HIV 感染を阻止するうえでも、また HCV-RNA 試験で用いているプール血漿を共用することが可能となるうえでも現時点では十分かつ適切といえる。しかしながら、検出感度を実質的に高めるためには、新たなリスクファクターを初期段階で経験的に検出できるような画期的なプロセスが不可欠であろう。この点からみて、特定されているウィンドウピリオドを短縮できる可能性は未だ最大域に達していないものと考えられる。

HIV-1 の NAT の導入を必須とするもうひとつの理由は、血液製剤を介した HIV 感染リスクをさらに低減させることである。製造業者によっては、コストパフォーマンスの良さから、NAT ではなく p24 抗原検査を代用するよう勧めている社も存在する。しかし、Paul-Ehrlich-Institut の調査によれば、4 件の HIV 感染事例のうち p24 抗原検査で証明されたのは 1 件にすぎなかった。検出感度 10,000 IU/mL 以上をもつ NAT がウィンドウピリオドで供血から HIV-1 を検出できる確率は p24 抗原検査よりも大幅に高く、この点についてはセロコンバージョンの経過に関する比較分析法によって裏づけられている。したがって、HIV-1 の抗原検査は NAT の代用にはならないものと考えられる。感度不十分な検査法の使用が指示されていたために、互いに異なる検査を経た血液製剤がドイツ国内で上市されていたこと、また既存の NAT から低感度の検査法に切り換えた製造業者が若干存在していた可能性があることは認めざるを得ない。

自家試験法の方法ならびに手順に関するバリデーションの実施は、1995 年 5 月 5 日付「医薬品の試験に関するガイドライン」（1995 年 5 月 20 日付「連邦官報」第 96a 号第 1 章 C「一般要件」）で規定されている。このため、自家試験法を対象としたバリデーションに関する資料は、薬事法第 28 条第 3 項 c 第 2 号に従って Paul-Ehrlich-Institut に提出しなければならない。バリデーションの実施に際しては、その実施や手順に関する公認ガイドラインとして CPMP 指針「分析手順のバリデーションに関するガイダンス文書『方法』（CPMP/ICH/281/95）ならびに「分析方法のバリデーションに関するガイダンス文書『定義と専門用語』（CPMP/ICH/281/95）を使用する（<http://www.emea.eu.int/index/indexh1.htm>「品質に関する ICH 公認ガイドライン、テーマ Q2A ならびに Q2B」を参照）。バリデーションに関する資料は、Paul-Ehrlich-Institut で規定に基づいた審査を行えるよう適時に提出すること。審査期間については 3 ヶ月と考えたい。なお、提出する資料については、供血に関する原資料、供血由来の各血液製剤の原料に関する資料のいずれでも可とする。

HIV-1-RNA 検査の実施に際しては、HIV-1 の NAT について 1999 年 11 月より適用されている WHO 標準品（No. 97/656、NIBSC [国立生物学的製剤研究所、英国]）を用いる。なお、本標準品は HIV-1 サブタイプ B を用いて製造されている。アンプル 1 本あたりの HIV-1-RNA 量は  $10^5$  IU/mL とする（HIV-1-RNA 量の 1 コピーは約 2 IU に相当）。HIV-1 の NAT については、HIV-1 M 群の各サブタイプをほぼ同一の感度で検出できることが確認されている。なお、定量した HIV-1 M 群のサブタイプの検体は、レトロウイルスに関する国内リファレンスセンター（Erlangen 大学）から入手できる。

血液製剤による重大な感染症のリスクを低減するための多大な努力が製造業者に求めら

れているのであれば、製造業者は公益の擁護を鑑み、これに対する必要かつ適切な措置をしかるべき形で講じなければならない。検出感度の範囲を適切に定め、これによって各供血の検体を集約できる可能性を勘案し、NAT の分野における開発の現状を顧慮する。

Paul-Ehrlich-Institut では、製造業者が自社で使用する検査方法の質ならびに適格性を継続的に確認する目的で、Paul-Ehrlich-Institut が定める年 1 回のラウンドロビン試験への参加を義務づける必要性があるものと考えている。既に実践されているラウンドロビン試験の評価からは、若干の製造業者で自社開発された NAT 法（自家試験法）について、HIV-1-RNA を所期の感度で検出するうえで有用であることが明らかにされた。総じて、HIV-1 の NAT から得られたデータの質は、ラウンドロビン試験として同時に実施された HCV の NAT（自家試験法）に関するデータの質と大きく異なっていた。HIV-1 のサブタイプ A~E の量が 10,000 IU/mL 以上の場合には、ほとんどの検査法では検出可能であったが、中には必ずしも検出できない方法も存在した。自家試験法を使用しない企業に限っては、2001 年 12 月以降、Paul-Ehrlich-Institut が承認した NAT のうち 2 種類（供血 24 単位のプール検体用）を HIV-1-RNA の検出目的で使用できる。この NAT に即した調査では、ラウンドロビン試験におけるすべての陽性検体は NAT 陽性、またすべての陰性検体は NAT 陰性と判定された。こうした点を勘案すれば、「市販の検査法を組み合わせで使用している場合でも、命令に従って HIV-1 の NAT を優先すべきなのか」という製造業者の抗弁を受け入れることはできない。

NAT の導入費用（場合によってはライセンス費用を含む）については、受血者の生命や健康を守るための安全面から酌量しなければならない。各製造業者の財政状況が厳しい場合であっても、血液製剤による HIV 感染リスクを低減して公益を擁護するための措置を回避することは許されない。

感染リスクの低減に向けた本命令は、貯留保管されている新鮮凍結血漿にも適用される。確かに、学術文献あるいは Paul-Ehrlich-Institut への事例報告に「貯留保管後の HIV 感染を血清学的検査で証明することは不可能である」という文言は見当たらない。しかし、抗 HIV-1 抗体検査や抗 HIV-2 抗体検査で陰性を示した供血者であっても、NAT で陽性を示す所見が認められる可能性は否定できない。よって、ここでは感染リスクの低減という観点から NAT の実施を求める。また、このような供血者から続いて採取された血液もやはり陰性を示すであろうが、HIV-1-RNA の NAT で感染が証明される可能性はある。したがって、貯留保管されている新鮮凍結血漿で過去に陽性を示した事例がない場合であっても、HIV-1 の NAT に費用がかかるということを理由に感染リスクを容認してはならない。供血者に対する HIV-1-RNA 検査は、プラスマフェレーシスを用いて調製した新鮮血漿に対しても行う必要がある。というのは、HIV に感染していながら抗体検査で陰性を示す供血者が存在するリスク、すなわち HIV に感染している供血者の検査で抗体が検出できないというリスクは、

検査を何度繰り返しても決して変わらないからである。現段階では、供血 1 単位あたりの検査費用を適切に判断することはできない。プラスマフェレーシスの対象となる供血者については、月あたり多数回の供血を許可する。また、当該供血者を対象とした HIV-1-RNA 検査については、少なくとも 3 ヶ月毎に行えば十分であるものとする。抗体検査が陰性の場合には、貯留保管期間における供血者の遡及調査が実施されず、感染リスクを有する多数の供血者由来血漿が在庫されてしまうおそれがある。したがって、追加検査の実施によってこうした事態を阻止することは必須である。この場合、貯留保管される血漿の提供者を対象とした HIV-1-RNA の検査については、3 ヶ月毎に行えば十分であるものとする。

本決定事項第 1 号に明示した期日については、「上記血液製剤の供給状況の確保」「製造業者で新規検査法への変更に伴い必要となる入れ換え作業」といった点を配慮した。凍結処理が施された血液製剤については、規定により、同一供血者から続いて採取された血液（検体）も HIV-1 の NAT の対象となる。しかし、既に貯留保管されている血液製剤のうち、2004 年 5 月 1 日以降でも品質が保持されるもの、あるいはその原料の提供者に対する HIV-1 の NAT が未実施となっているものを不合格品として扱うことは絶対に避けなければならない。

本命令は、薬事法第 28 条第 3 項 c に従って直ちに施行してよい。よって、異議や撤回の申し立ては速やかに行うこと。

本決定事項に定める要件の履行については、薬事法第 29 条第 1 項第 1 段および第 2 項第 1 段第 4 号に従い、同封の書式に記載したうえで「変更通知」という形で Paul-Ehrlich-Institut に申告する。www.pei.de の電子書式を使用しても差し支えない。供血に関する原資料が存在する場合には（2001 年 9 月 19 日付「連邦官報」21361 頁を参照）、それぞれ該当する原資料を提出してもよい。また、各書式の写しを提出することも可とする。

自家試験法（HIV-1-RNA）を対象とした次回のラウンドロビン試験の申込期限は、2003 年 6 月 1 日とする（Fax : 06103/771265）。なお、その実施時期については 2003 年 9 月を予定している。

今回の要件を履行するうえで必要となる変更通知は、この履行要件に関する決定通知と同一の案件（手続き）として処理する。したがって、これにかかる業務手数料については、当該処理業務のうちいずれか一方のみに適用することが妥当であるものとする。これに加え、本件では検査方法の変更が公益の擁護を意図していることから、これにかかる手数料については「Paul-Ehrlich-Institut の業務手数料に関する規定」に従って適宜引き下げることが可能である。よって、当該手数料については、第 4 条第 1 項第 4 号 a「Paul-Ehrlich-Institut



の手数料に関する規定」および第4条第8項「Paul-Ehrlich-Institut の手数料に関する規定」の「引き下げの内容」に従って、この履行要件に関する決定通知に対してではなく、今回の要件を履行するうえで必要となる変更通知の処理時をもって初めて生じるものとする。

#### 法的救済に関する指示事項

本行政行為の有効期間は、連邦官報での公示後2週間とする。

現時点より1ヵ月以内に限り、当該行為に対する異議の申し立てを許可する。この場合、申し立てに関する内容を書面（文書）に記載し、血清・予防接種庁 Paul-Ehrlich-Institut（Paul-Ehrlich Str. 51-59 63225 ランゲン）に提出すること。

2003年5月6日、ランゲン

血清・予防接種庁  
Paul-Ehrlich-Institut

所長  
教授／医学博士 J Löwer

**Paul-Ehrlich-Institut**  
**Bundesamt für Sera und Impfstoffe**

**Bekanntmachung**  
**über die Zulassung und Registrierung**  
**von Arzneimitteln**  
**(Verminderung des Risikos von HIV-1-Infektionen**  
**durch zelluläre Blutprodukte**  
**und gefrorenes Frischplasma)**  
**— Anordnung der Testung auf HIV-1-RNA**  
**mit Nukleinsäure-Amplifikationstechniken —**

Vom 6. Mai 2003

Nach schriftlicher Anhörung des Paul-Ehrlich-Instituts vom 23. April 2001 (BAnz. S. 9506) wurde die Anordnung einer Maßnahme zurückgestellt, da zunächst mittels Ringversuch den pharmazeutischen Unternehmern die Gelegenheit gegeben werden sollte, die Leistungsfähigkeit ihrer Inhouse-Methoden zu belegen (vgl. Bekanntmachung vom 27. August 2001, BAnz. S. 19 365). Es ergeht nun an die pharmazeutischen Unternehmer, die zelluläre Blutprodukte und gefrorenes Frischplasma in den Verkehr bringen, folgender

**Bescheid:**

1. Zelluläre Blutkomponenten und gefrorene Frischplasmen, die nach dem 30. April 2004 in den Verkehr gebracht werden, müssen aus Spenden hergestellt sein, die mittels einer geeigneten Nukleinsäure-Amplifikationstechnik (NAT), z. B. der Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR), untersucht worden sind, ohne dass Genome des humanen Immundefizienz-Virus Typ 1 (HIV-1) nachgewiesen wurden. Bei tiefgekühlten Blutkomponenten kann diese Untersuchung anstatt an der zur Herstellung verwendeten Spende auch an einer nachfolgenden Spende oder Blutprobe desselben Spenders vorgenommen werden. Die verwendete Methode muss so ausgelegt sein, dass mindestens eine Konzentration von HIV-1-RNA von 10 000 IU/ml, bezogen auf die Einzelspende, verlässlich erkannt wird (Referenzpräparat: WHO-Standard für HIV-1-RNA (97/656); 105 IU/ml).
2. Für mittels Plasmapherese hergestelltes quarantänegelagertes gefrorenes Frischplasma dürfen auch insoweit nicht mittels HIV-1 NAT getestete Spenden verwendet werden, wenn eine spätestens drei Monate nach der Spende entnommene Blutprobe des Spenders mittels einer den obigen Kriterien entsprechenden HIV-1 NAT negativ getestet worden ist.
3. Inhouse-Testmethoden müssen folgende Voraussetzungen erfüllen:
  - a) Die Methode ist nach den CPMP-Leitfäden „Note for Guidance on Validation of Analytical Procedures: Methodology“ (CPMP/ICH/281/95) und „Note for Guidance on Validation of Analytical Methods: Definitions and Terminology“ (CPMP/ICH/381/95) mit Hilfe von Referenzpräparaten validiert worden, wobei die Validierung der HIV-1 NAT entsprechend der Empfehlung zur HCV NAT (<http://www.pei.de/downloads/loadlink.htm>) durchgeführt worden sein muss. Bei Abweichungen ist darzulegen, dass die tatsächliche Vorgehensweise gleichermaßen geeignet ist. Die Unterlagen über die Validierung der NAT müssen dem Paul-Ehrlich-Institut vor der Einführung des Prüfverfahrens, spätestens zum 1. Dezember 2003 vorgelegt worden sein.
  - b) Die Eignung der Inhouse-Methode muss in einem vom Paul-Ehrlich-Institut angebotenen Ringversuch belegt worden sein und in weiteren vom Paul-Ehrlich-Institut festgelegten Ringversuchen — beabsichtigt ist ein jährlicher Rhythmus — bestätigt werden.

4. Kosten für die Anordnung dieser Auflage werden nicht festgesetzt.

#### I.

Die Anordnung der o. g. Auflagen erfolgt nach § 28 Abs. 3c AMG und ist geboten, um das Risiko der HIV-Übertragung durch Transfusionen weiter zu vermindern. Eine HIV-Infektion führt in der Regel zur AIDS-Erkrankung, die trotz der fortgeschrittenen Therapiemöglichkeiten auch heute noch zumeist tödlich verläuft. Maßnahmen, die das Risiko einer Übertragung von HIV durch Bluttransfusionen vermindern können, sind daher grundsätzlich geboten, sobald sie technisch möglich sind. Bei zellulären Blutprodukten, die bislang keiner Inaktivierung unterzogen werden können, besteht die Gefahr der Übertragung einer HIV-Infektion, wenn die Infektion bei dem Blutspender noch nicht zu einer mit Antikörpertests erkennbaren Antikörperbildung geführt hat (diagnostisches Fenster). Zum heutigen Zeitpunkt ist die Einführung einer HIV-1 NAT für das Blutspendescreeing mit einer auf die Einzelspende bezogenen Mindestempfindlichkeit von 10 000 IU/ml technisch möglich und geeignet, die Sicherheit der Blutspenden bezüglich HIV noch weiter zu erhöhen.

Die Ergebnisse von Untersuchungen des Paul-Ehrlich-Instituts zum Verlauf der Virämie in der frühen Infektionsphase und zur möglichen Verkleinerung des diagnostischen Fensters durch den Nachweis von HIV-RNA wurden durch andere Gruppen bestätigt (M. P. Busch „HIV, HBV and HCV: New developments related to transfusion safety“ Vox Sang 2000; 78 (suppl. 2): 253-256). Mit HIV-1-NAT-Verfahren kann danach das durch serologische Testverfahren definierte diagnostische Fenster um durchschnittlich bis zu 15 Tage verkleinert werden. Entsprechend der im Vergleich zu HCV niedrigeren Verdopplungsrate der HI-Viren werden zu Beginn der Infektion zunächst niedrige Virustiter nachgewiesen, die dann zum Ende der Fensterphase auf bis zu  $10^7$  RNA-Kopien/ml ansteigen können.

Bereits im Jahr 1997 hat das Paul-Ehrlich-Institut die pharmazeutischen Unternehmer von Erythrozytenkonzentraten zu der beabsichtigten Maßnahme auf Einführung der NAT-Testung auf Hepatitis-B-Virus-, Hepatitis-C-Virus- und HIV-1-Genome im Spenderscreening angehört. Da damals weder geeignete kommerzielle Testsysteme noch ein internationaler Standard für HIV-1-RNA zur Verfügung standen, wurde die NAT-Testung auf HIV-1-RNA nicht angeordnet.

Zwischenzeitlich sind dem Paul-Ehrlich-Institut vier HIV-Übertragungen durch zelluläre Blutprodukte gemeldet worden, die aus Spenden hergestellt wurden, die in den eingesetzten serologischen Tests nicht reaktiv waren. Die mittels quantitativer HIV-1 NAT in den Rückstellproben bestimmten Virustiter waren aber in allen vier Fällen relativ hoch (17 000, 25 000 bzw. in zwei Fällen  $>75\ 000$  RNA-Kopien pro ml; 1 Kopie HIV-1-RNA entspricht etwa 2 IU).

Etwa 70% der in Deutschland in Verkehr gebrachten Blutkomponenten werden bereits heute eigenverantwortlich durch die pharmazeutischen Unternehmen mit HIV NAT getestet. Auf diese Weise konnten seit 1997 bis heute mindestens fünf weitere HIV-1-positive Spenden erkannt und ausgesondert werden.

#### II.

Die Einführung der HIV-1-NAT-Testung mit einer Mindestsensitivität, bezogen auf die Einzelspende, von 10 000 IU HIV-1-RNA/ml (dies entspricht etwa 5000 RNA-Kopien/ml) ist gegenwärtig ausreichend und angemessen. Zum einen wären damit die dem Paul-Ehrlich-Institut berichteten Übertragungen verhindert worden; zum anderen kann eine Pooltestung mit den Untersuchungen auf HCV-RNA kombiniert werden. Eine wesentlich höhere Sensitivität würde demgegenüber eine neue Logistik erfordern, die erfahrungsgemäß in der Anlaufphase mit neuen Risiken verbunden ist. Daher ist auch hinzunehmen, dass damit die Verkleinerung des diagnostischen Fensters nicht in dem maximal möglichen Umfang erreicht wird.

Die Einführung der HIV-1 NAT ist auch erforderlich, um das Risiko der HIV-Übertragung durch Blutkomponenten weiter zu vermindern. Der von einigen pharmazeutischen Unternehmern als kostengünstigere Alternative vorgeschlagene p24 Antigenstest hätte nach den Untersuchungen des Paul-Ehrlich-Instituts lediglich eine der vier HIV-Infektionen verhindert. Die vergleichende Analyse von Serokonversions-Verläufen bestätigt, dass eine HIV-1 NAT mit einer Mindestempfindlichkeit von 10 000 IU/ml deutlich mehr Fensterphase-Spenden erkennt als der p24 Antigenstest. Daher würde eine Einführung des Antigenstests keine vergleichbare Alternative zur HIV-1 NAT darstellen. Mit der Anordnung eines weniger sensitiven Tests würde geduldet werden, dass in Deutschland unterschiedlich getestetes Blut in den Verkehr gebracht bzw. möglicherweise von einigen pharmazeutischen Unternehmern die bereits durchgeführte NAT-Testung zu Gunsten eines weniger sensitiven Tests wieder aufgegeben würde.

Die Validierungsunterlagen für Inhouse-Verfahren sind dem Paul-Ehrlich-Institut nach § 28 Abs. 3c Nr. 2 AMG vorzulegen. Dies ist erforderlich, da nach den Arzneimittelpflichtlinien vom 5. Mai 1995 (BAnz. Nr. 96a vom 20. Mai 1995, 1. Abschnitt C, Allgemeine Anforderungen) die angewandten Methoden und Verfahren validiert sein müssen. Anerkannte Richtlinien für die Durchführung und Verfahren wie die CPMP-Leitfäden „Note for Guidance on Validation of Analytical Procedures: Methodology“ (CPMP/ICH/281/95) und „Note for Guidance on Validation of Analytical Methods: Definitions and Terminology“ (CPMP/ICH/381/95) müssen dabei berücksichtigt werden (abrufbar unter <http://www.emea.eu.int/index/indexh1.htm>, approved ICH Quality Guidelines, Topic Q2A bzw. Q2B). Die Unterlagen sind dem Paul-Ehrlich-Institut so rechtzeitig vorzulegen, dass eine ordnungsgemäße Überprüfung durch das Paul-Ehrlich-Institut erfolgen kann, wobei hierfür ein Zeitraum von drei Monaten als angemessen erachtet wird. Die Unterlagen können entweder zu der Spenden-Stammdokumentation eingereicht werden oder einzeln für jedes betroffene Arzneimittel.

Die Quantifizierung der HIV-1-RNA-Konzentration nimmt Bezug auf den seit November 1999 verfügbaren WHO-Standard für HIV-1 NAT (Nr. 97/656, NIBSC [UK]), der auf dem HIV-1 Subtyp B basiert. Eine Ampulle enthält definitionsgemäß  $10^5$  IU/ml, wobei etwa 2 IU einer Kopie HIV-1-RNA entsprechen. Es ist sicherzustellen, dass die HIV-1 NAT die verschiedenen Subtypen der HIV-1-M-Gruppe mit ähnlicher Effizienz erkennt. Proben mit quantifizierten HIV-1-Subtypen der M-Gruppe können vom nationalen Referenzzentrum für Retroviren an der Universität Erlangen bezogen werden.

Im Hinblick auf das öffentliche Interesse, das Risiko der Übertragung von schweren Infektionskrankheiten mit Blutprodukten zu vermindern, ist eine dazu geeignete und erforderliche Maßnahme auch dann gerechtfertigt, wenn sie seitens der pharmazeutischen

Unternehmer erhebliche Anstrengungen verlangt. Durch die getroffene Festlegung der Empfindlichkeitsgrenze und die dadurch eingeräumte Möglichkeit, Proben von Einzelspenden zusammenzuführen, wird dem gegenwärtigen Stand der Entwicklung im Bereich der NAT-Verfahren Rechnung getragen.

Zur kontinuierlichen Überprüfung der Qualität und Eignung der Inhouse-Methoden hält es das Paul-Ehrlich-Institut für erforderlich, die erfolgreiche Teilnahme an einem jährlich vom Paul-Ehrlich-Institut angebotenen Ringversuch verpflichtend zu machen. Die Auswertung eines bereits durchgeführten Ringversuchs hat nämlich ergeben, dass einige pharmazeutische Unternehmer in der Lage sind, mit selbst entwickelten NAT-Methoden (Inhouse-Verfahren) HIV-1-RNA mit der geforderten Empfindlichkeit nachzuweisen. Generell ergab sich für die HIV-1 NAT im Vergleich zu den Ergebnissen des parallel durchgeführten Ringversuchs zu HCV NAT (Inhouse-Methoden) ein weniger homogenes Bild. Mehrheitlich wurde zwar die Konzentration von 10 000 IU/ml für die HIV-1-Subtypen A bis E erkannt, mit einigen Methoden konnte dieses Ergebnis jedoch nicht konsistent gewährleistet werden. Soweit keine Inhouse-Methoden verwendet werden, stehen seit Dezember 2001 zwei vom Paul-Ehrlich-Institut zugelassene NAT-Testsysteme zum Nachweis von HIV-1-RNA, die für Poolgrößen von 24 Spenden geeignet sind, zur Verfügung. Entsprechende Untersuchungen mit diesen Tests ergaben, dass alle positiven Proben des Ringversuchs als reaktiv und die Negativproben entsprechend nicht reaktiv bewertet wurden. Einwendungen der pharmazeutischen Unternehmer, dass die Anordnung der HIV-1-NAT-Testung erst erfolgen dürfe, wenn Testkombination(en) auf dem Markt verfügbar seien, sind damit hinfällig geworden.

Die Kosten dieser Testung einschließlich etwaiger Lizenzgebühren müssen im Hinblick auf den hohen Rang des Schutzes von Leben und Gesundheit betroffenen Patienten in Kauf genommen werden. Die schwierige wirtschaftliche Situation einzelner pharmazeutischer Unternehmer kann nicht zur Abwendung einer Maßnahme führen, die zu einer Verminderung von HIV-Übertragungen durch Blutkomponenten geeignet ist und hiernach im öffentlichen Interesse steht.

Auch für in Quarantäne gelagertes Frischplasma ist diese Anordnung zur Risikovorsorge geboten. Zwar ist weder aus der wissenschaftlichen Literatur noch aus den dem Paul-Ehrlich-Institut vorliegenden Verdachtsmeldungen abzuleiten, dass eine HIV-Infektion nach Quarantänelagerung nicht durch serologische Tests erkannt werden kann. Dennoch ist hier im Rahmen der Risikovorsorge die Maßnahme geboten, da die Möglichkeit besteht, dass ein Spender eine Antikörperkonstellation aufweist, der durch den eingesetzten antiHIV1/2-Test nicht erkannt wird. Diese Infektion würde dann auch bei der Folgespende möglicherweise unerkannt bleiben, wohl aber durch eine NAT-Testung auf HIV-1-RNA in Erscheinung treten. Auch unter Abwägung des erforderlichen Aufwandes der HIV-1-NAT-Testung für in Quarantäne gelagertes Frischplasma kann deshalb das mögliche Risiko nicht in Kauf genommen werden, auch wenn sich dieses bislang noch nicht realisiert hat. Die Testung der Spender auf HIV-1-RNA muss auch für die Herstellung von mittels Plasmapherese gewonnenem Frischplasma durchgeführt werden, da die Häufigkeit der Testung nichts an dem möglichen Risiko, dass ein infizierter Spender keine Antikörper bildet oder dass der Test die Antikörper nicht erkennt, ändert. Allerdings ist hier der Aufwand der Testung von jeder Spende nicht gerechtfertigt. Plasmapheresespenden können mehrmals im Monat zur Spende zugelassen werden. Es wird als ausreichend angesehen, dass diese Spender im Abstand von mindestens drei Monaten auf HIV-1-RNA untersucht werden. Durch die zusätzliche Testung soll ausgeschlossen werden, dass im Falle des Nichterkennens eines Antikörpertests ein vom Spender ausgehendes Rückverfolgungsverfahren über den Quarantänezeitraum nicht durchgeführt wird und damit mehrere möglicherweise infektiöse Plasmaspenden freigegeben werden. Eine Spendertestung auf HIV-1-RNA in einem Abstand von drei Monaten wird somit für quarantänegelagertes Plasma als ausreichend angesehen.

Der im Tenor zu Nummer 1 genannte Zeitpunkt berücksichtigt die Sicherstellung der Versorgungslage mit o. g. Blutprodukten und die bei den pharmazeutischen Unternehmern für die Umsetzung der neuen Testmethode erforderlichen Umstellungen. Durch die Regelung, dass bei tiefgekühlten Blutkomponenten die HIV-1 NAT auch an einer nachfolgend entnommenen Spende oder Blutprobe vorgenommen werden kann, soll vermieden werden, dass bereits eingelagerte Blutkomponenten verworfen werden müssen, die auch nach dem 1. Mai 2004 noch haltbar sind und bei denen die zur Herstellung verwendete Spende noch nicht mittels HIV-1 NAT getestet wurde.

Diese Anordnung ist gemäß § 28 Abs. 3c AMG sofort vollziehbar, so dass Widerspruch und Anfechtungsklage keine aufschiebende Wirkung haben.

Die Erfüllung der Auflagen aus diesem Bescheid ist dem Paul-Ehrlich-Institut im Wege einer Änderungsanzeige gemäß § 29 Abs. 1 Satz in Verbindung mit Abs. 2a Satz 1 Nr. 4 AMG auf dem als Anlage beigefügten Formblatt anzuzeigen, das auch in elektronischer Form unter [www.pei.de](http://www.pei.de) erhältlich ist. Sofern eine Spendenstammdokumentation vorliegt (vgl. Bekanntmachung vom 19. September 2001, BAnz. S. 21 361), kann die Anzeige auf die entsprechende Stammdokumentation bezogen werden. Andernfalls ist eine Kopie des Formblatts zu jeder Zulassung einzureichen.

Um Anmeldung für den nächsten Ringversuch zu Inhouse-NAT-Methoden (HIV-1-RNA) wird bis 1. Juni 2003 (Telefax: 0 61 03/77 12 65) gebeten. Es ist geplant, den Ringversuch im Verlaufe des September 2003 durchzuführen.

Da der Bearbeitung der zur Erfüllung der Auflage erforderlichen Änderungsanzeigen derselbe Sachverhalt bzw. Verfahrensgegenstand zugrunde liegt wie diesem Auflagenbescheid, erscheint es sachgerecht und angemessen, die Gebührenerhebung auf eine der beiden Amtshandlungen zu beschränken. Zudem besteht bei der Gebührenerhebung für die Bearbeitung von Anzeigen zur Änderung des Prüfverfahrens, die – wie hier – im öffentlichen Interesse liegen, nach der Kostenverordnung für Amtshandlungen des Paul-Ehrlich-Instituts die Möglichkeit, die Gebühren entsprechend zu ermäßigen. Dementsprechend werden Kosten nicht für diesen Auflagenbescheid, sondern erst für die Bearbeitung der zur Erfüllung der Auflage erforderlichen Änderungsanzeigen gemäß § 4 Abs. 1 Nr. 4 Buchstabe a PEI-KostVO in Verbindung mit dem Ermäßigungsvertragstatbestand des § 4 Abs. 8 PEI-KostVO erhoben werden.

#### **Rechtsbehelfsbelehrung**

Dieser Verwaltungsakt gilt zwei Wochen nach Veröffentlichung im Bundesanzeiger als bekannt gegeben.

Gegen diesen Bescheid kann innerhalb eines Monats nach diesem Zeitpunkt Widerspruch erhoben werden. Der Widerspruch ist beim Paul-Ehrlich-Institut, Bundesamt für Sera und Impfstoffe, Paul-Ehrlich-Str. 51–59, 63225 Langen, schriftlich oder zur Niederschrift einzulegen.

Langen, den 6. Mai 2003

Paul-Ehrlich-Institut  
Bundesamt für Sera und Impfstoffe  
Der Präsident  
Prof. Dr. J. L ö w e r



## An Overall View of Standardization

May 26, 2004  
Indira Hewlett, Ph.D.  
CBER/FDA

## CBER HIV-1 RNA Panel

HIV-1 subtype B panel has 10 members

- Cultured patient isolate, heat inactivated and diluted with defibrinated Ab-ve plasma
- Gag, pol and env regions sequenced
- Virus dilutions tested by 15 labs in collaborative study
- 8 positives: 10, 50, 100, 500, 2500, 5000,  $2.5 \times 10^4$ , and  $2.5 \times 10^5$  copies/mL and 2 negatives
- **Current HIV-1 standard is 100 IU/ml for the pool test and 10,000 IU/ml for the original donation**

