

NATコントロールサーベイ事業 2023年度 実績報告

事業代表者 水上 拓郎

国立感染症研究所 次世代生物学的製剤研究センター センター長

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 年の薬食発 0730 第 1 号により「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 (以下、NAT ガイドライン)」の改正が行われ、薬食血発 0730 第 2 号により輸血用血液スクリーニングへの個別 NAT 導入に伴う NAT に必要とされる検出限界値の改正が行われた。以降、2016 年度に新しいマルチプレックス法を用いた HBV NAT の検出感度と特異性の実情把握を目的として WHO HBV ジェノタイプ国際参照パネルを用いた第 8 回 NAT コントロールサーベイ、2017-18 年度に HIV-1 NAT の検出感度と特異性の実情把握を目的として WHO HIV-1 サブタイプ国際参照パネルを用いた第 9 回 NAT コントロールサーベイ、2019 年度に HCV NAT の検出感度と特異性の実情把握を目的として HCV サブタイプ国内参照パネルを用いた第 10 回 NAT コントロールサーベイ、2020 年度に新しいマルチプレックス法における HIV-1 NAT の検出感度と特異性の実情把握を目的として WHO HIV-1 CRF 国際参照パネルを用いた第 11 回 NAT コントロールサーベイを実施した。輸血用血液の NAT スクリーニング試験法が 2020 年 8 月より HEV の検出を加えたマルチプレックス法に更新されたことから、2021 年度は HBV, HCV, HIV-1, HEV の 4 ウイルスパネルを用いて、新試験法のそれぞれのウイルスに対する検出感度と特異性の把握を目的とした第 12 回 NAT コントロールサーベイを実施し、さらに第 13 回 NAT コントロールサーベイでは血漿分画製剤の原料血漿プールの NAT を実施する施設を対象に、試験法の感度と特異性の把握を目的として HBV, HCV, HIV-1 の 3 ウイルスパネルを用いたサーベイを実施してきた。

2023 年度の第 14 回 NAT コントロールサーベイでは日本赤十字社を対象に、HBV, HCV, HIV-1、および HEV NAT の検出感度と特異性の実情把握を目的として 4 種類のウイルスパネルを用いたサーベイを実施した。

2. 実施内容

1) 参加施設 (表 1)

輸血用血液製剤の NAT 実施施設 8 施設
オブザーバーとして、研究施設 1 施設

2) パネルの調製 (表 2)

材料として、HBV、HCV、HIV-1 および HEV 国内標準品を用いて評価用のパネル (2 種) を作製した。国内標準品の希釈には、陰性血漿 (HCV 抗体、HBs 抗原、HIV-1/2 抗体、及び HBV、HCV、HIV-1/2、HEV の NAT 全てが陰性)、あるいは 4 ウイルスの何れかが高濃度 ($>3 \times 10^3$ IU/mL) に含まれる陽性血漿を用いた。各標的ウイルスの低濃度陽性検体として、輸血用血液の NAT で必要とされる検出限界値 (HBV: 100 IU/mL, HCV: 100 IU/mL, HIV-1: 200 IU/mL, HEV: 未設定) の 1.5 倍あるいは 3 倍濃度にあたる 300 IU/mL に検体を希釈調製した。陰性対照検体も含めた計 20 検体をブラインド化したパネルを参加施設に送付した。

スクリーニング試験用パネル: HBV, HCV, HIV-1, HEV の国内標準品を希釈したウイルス陽性検体及び陰性血漿検体からなる 11 種類の検体

同定試験用パネル: HBV, HCV, HIV-1 の国内標準品を希釈したウイルス陽性検体及び陰性血漿検体からなる 9 種類の検体

3) 測定

輸血用血液製剤の NAT 実施施設と研究施設は Procleix UltrioPlex E ABD Assay (グリフォルス株式会社) 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 (HBV、HCV、HIV-1/2 を識別せず検出し、同時に HEV を単独で検出する) と HBV、HCV、HIV-1/2 を識別するための同定試験とから構成されている。参加施設はスクリーニング試験と同定試験の両方の試験法を用いて、上記のパネル検体についてそれぞれ日を変えて 3 回測定した。

4) 結果

(1) 輸血用血液製剤の NAT (表 3 および 4)

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同定試験法の両方において HBV、HCV、HIV-1、および HEV 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、HBV、HCV、HIV-1 および HEV の低濃度 (300 IU/mL) に希釈された検体および高濃度の他のウイルスが混在した検体 ($>3 \times 10^3$ IU/mL) でも標的のウイルスが特異的に検出・同定できることが確認された。陰性対照は全て陰性と判定された。

(2) 研究施設における NAT

オブザーバーとして参加した研究施設にて実施されている NAT 試験は HBV、HCV、HIV-1 および HEV の低濃度 (300 IU/mL) に希釈された検体および高濃度の他のウイルスが混在した検体 ($>3 \times 10^3$ IU/mL) でも標的のウイルスが特異的に検出・同定でき

ることが確認された。陰性対照は全て陰性と判定された。

3. 考察

2023年度に実施したHBV、HCV、HIV-1、およびHEVの4ウイルスパネルを用いた第14回NATコントロールサーベイにて、輸血用血液製剤のNATを実施する施設でのスクリーニング試験と同定試験の両試験法において、HBV、HCV、HIV-1、およびHEVの各ウイルスの陽性検体を検出できたことから、試験の精度管理が適切に実施されていることが確認された。全施設においてHBV、HCV、HIV-1、およびHEVの低濃度(300 IU/mL)に希釈された検体および高濃度の他のウイルスが混在した検体($>3 \times 10^3$ IU/mL)でも標的のウイルスが特異的に検出・同定されたことから、検出感度および検出特異性は高い水準で維持されていると考えられる。

4. 2024年度の実施計画(表5)

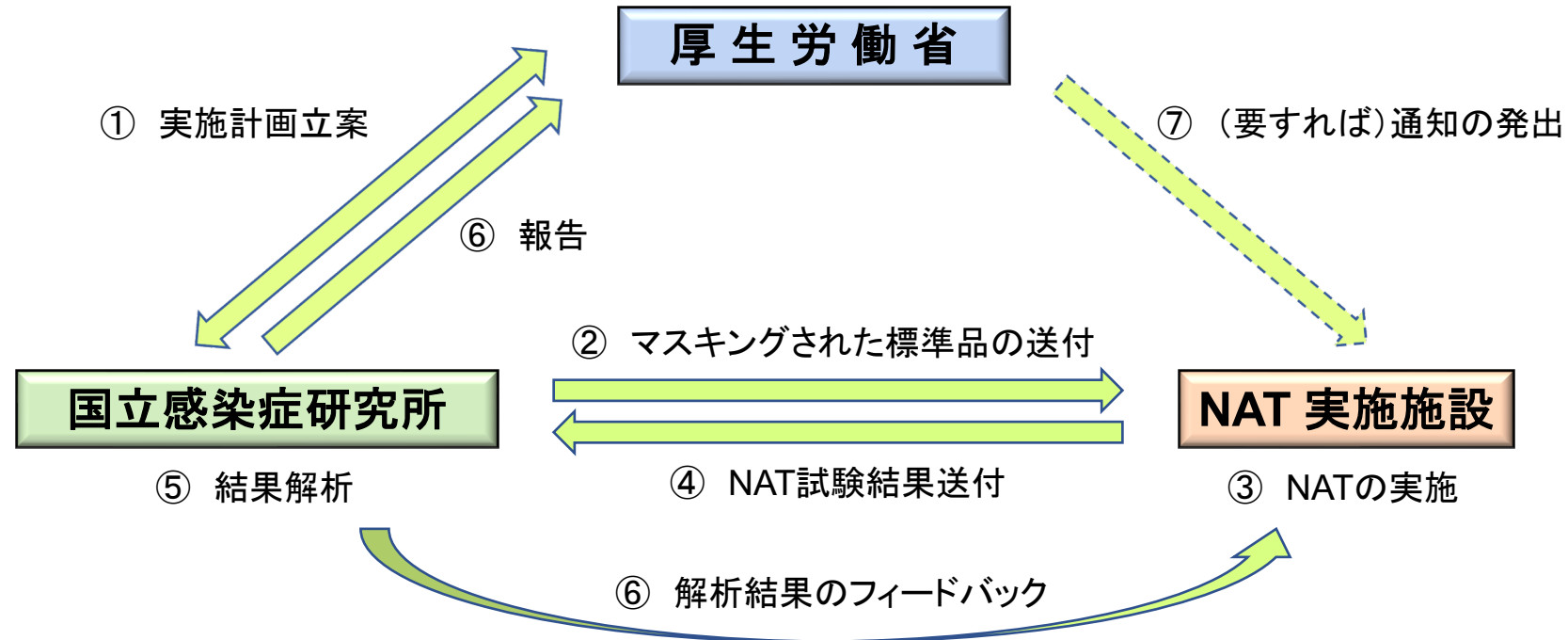
2024年度は、輸血用血液のNAT実施施設、および血漿分画製剤の原料血漿プールのNAT実施施設を対象に、パルボウイルスB19 NATの検出感度と特異性の実情把握を目的とした第15回NATコントロールサーベイの実施を計画している。

NATコントロールサーベイ事業の概要

事業目的・実施内容

- 血液製剤の安全性確保のために、メーカー等のNAT実施施設において適切な精度管理が実施されていることを確認するもの
- 血液事業部会運営委員会において、メーカー等のNAT実施施設に対し、定期的にコントロールサーベイを実施することが求められている
- 平成22年に出されたWHOガイドラインにより、献血血液のスクリーニング実施施設において外部品質検査の実施が求められている
- 日本国内におけるNAT実施施設それぞれにおいて、マスキングされた標準の検体を測定することで、各施設におけるNATの感度や精度を相互に比較することが可能になるため、公的な第三者機関である国立感染症研究所で標準検体を作製しコントロールサーベイを実施する必要がある

実施主体 : 国立感染症研究所
対象(NAT 実施施設): 献血スクリーニング施設、血漿分画製剤製造所、民間の衛生検査所、その他



- ① 厚生労働省と感染研で、対象となるウイルス等を決定し、NAT コントロールサーベイの実施計画を立案。
- ② 実施計画に基づき、コントロールサーベイの対象となるNAT実施施設にマスキングされた標準品を送付。(必要に応じ感染研で標準品を入手又は作成する。)
- ③ 標準品に対し、NATを実施する。
- ④ NATの結果を感染研に送付する。
- ⑤ 各施設から送付されてきた結果を解析し、とりまとめる。
- ⑥ とりまとめた結果を、厚生労働省に報告するとともに、各解析対象の施設にフィードバックする。
- ⑦ 感染研からの報告、是正等の措置が必要となった場合、必要に応じて通知を発出する等により対処する。

NATコントロールサーベイ事業の履歴一覧

回	年度	対象ウイルス・備考	予算
第1回	2006	HBV NAT	厚生労働科学研究費 補助金
-	2007		
第2回	2008	HCV/ HIV-1 NAT	
第3回	2009	HBV genotype NAT	
第4回	2010	HIV-1 NAT for Blood Screening	厚生労働省 NATコントロール サーベイ事業
第5回	2011	HCV genotype NAT	
第6回	2012	HBV genotype NAT for IVD	
	2013-2014	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新しいマルチプレックス法に更新	
-	2013	cobas s201 設置・評価	
-	2014	HCV/ HIV-1国内標準品への微量HBV混入調査	
第7回	2015	Multiplex NAT for Source Plasma and Blood Screening (HBV/ HCV/ HIV)	
第8回	2016	HBV genotype NAT for Source Plasma and Blood Screening	
第9回	2017	HIV subtype NAT for Blood Screening	
	2018	HIV subtype NAT for Source Plasma	
第10回	2019	HCV genotype NAT for Source Plasma and Blood Screening	
第11回	2020	HIV-1 CRF NAT for Source Plasma and Blood Screening	
	2020	輸血用血液のNATスクリーニング試験法がHEVの検出を加えたマルチプレックス法に更新	
第12回	2021	HBV/ HCV/ HIV-1/ HEV NAT for Blood Screening	
第13回	2022	Multiplex NAT for Source Plasma (HBV/ HCV/ HIV-1)	
第14回	2023	Multiplex NAT for Blood Screening (HBV/ HCV/ HIV-1/ HEV)	
第15回	2024	Multiplex NAT for Blood Screening (Parvovirus B19)	

今後の検討課題	PVB19	HAV	HEV genotype panel
	HBV/ HCV/ HIV 国内標準品の更新		

表1. 参加施設一覧

日本赤十字社

北海道ブロック血液センター

東北ブロック血液センター

関東甲信越ブロック血液センター

関東甲信越ブロック血液センター 埼玉製造所

東海北陸ブロック血液センター

近畿ブロック血液センター

中四国ブロック血液センター

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

日本赤十字社 中央血液研究所

表2. 国内標準品を用いた4ウイルスパネル

対象試験	番号	検体	濃度 (IU/mL)	希釈血漿
スクリーニング試験	1	低濃度HBV陽性検体	HBV 300	HEV陽性血漿 ($>3 \times 10^3$ IU/mL)
	2			陰性血漿
	3	低濃度HCV陽性検体	HCV 300	HEV陽性血漿 ($>3 \times 10^3$ IU/mL)
	4			陰性血漿
	5	低濃度HIV-1陽性検体	HIV-1 300	HEV陽性血漿 ($>3 \times 10^3$ IU/mL)
	6			陰性血漿
	7	低濃度HEV陽性検体	HEV 300	HBV陽性血漿 ($>3 \times 10^3$ IU/mL)
	8			HCV陽性血漿 ($>3 \times 10^3$ IU/mL)
	9			HIV-1陽性血漿 ($>3 \times 10^3$ IU/mL)
	10			陰性血漿
	11	陰性検体	—	陰性血漿
同定試験	12	低濃度HBV陽性検体	HBV 300	HCV陽性血漿 ($>3 \times 10^3$ IU/mL)
	13			HIV-1陽性血漿 ($>3 \times 10^3$ IU/mL)
	14			HEV陽性血漿 ($>3 \times 10^3$ IU/mL)
	15	低濃度HCV陽性検体	HCV 300	HBV陽性血漿 ($>3 \times 10^3$ IU/mL)
	16			HIV-1陽性血漿 ($>3 \times 10^3$ IU/mL)
	17			HEV陽性血漿 ($>3 \times 10^3$ IU/mL)
	18	低濃度HIV-1陽性検体	HIV-1 300	HBV陽性血漿 ($>3 \times 10^3$ IU/mL)
	19			HCV陽性血漿 ($>3 \times 10^3$ IU/mL)
20	HEV陽性血漿 ($>3 \times 10^3$ IU/mL)			

日を変えて3回ずつ測定

表3.日本赤十字社ブロック血液センターの4ウイルス検出・同定結果
(スクリーニング試験)

検体番号	Day1		Day2		Day3	
	HBV/HCV/HIV	HEV	HBV/HCV/HIV	HEV	HBV/HCV/HIV	HEV
01	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
02	8/8	0/8	8/8	0/8	8/8	0/8
03	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
04	8/8	0/8	8/8	0/8	8/8	0/8
05	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
06	8/8	0/8	8/8	0/8	8/8	0/8
07	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
08	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
09	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
10	0/8	8/8	0/8	8/8	0/8	8/8
11	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8

**表4.日本赤十字社ブロック血液センターの4ウイルス検出・同定結果
(同定試験)**

検体番号	Day1			Day2			Day3		
	HBV	HCV	HIV-1	HBV	HCV	HIV-1	HBV	HCV	HIV-1
12	8/8	－	－	8/8	－	－	8/8	－	－
13	8/8	－	－	8/8	－	－	8/8	－	－
14	8/8	－	－	8/8	－	－	8/8	－	－
15	－	8/8	－	－	8/8	－	－	8/8	－
16	－	8/8	－	－	8/8	－	－	8/8	－
17	－	8/8	－	－	8/8	－	－	8/8	－
18	－	－	8/8	－	－	8/8	－	－	8/8
19	－	－	8/8	－	－	8/8	－	－	8/8
20	－	－	8/8	－	－	8/8	－	－	8/8

表5. 国内標準品を用いたパルボウイルスB19パネル (案)

番号	検体	濃度 (IU/mL)	希釈血漿
1	高濃度PVB19陽性検体	PVB19 3000	HBV陽性血漿 ($>3 \times 10^3$ IU/mL)
2			HCV陽性血漿 ($>3 \times 10^3$ IU/mL)
3			HIV-1陽性血漿 ($>3 \times 10^3$ IU/mL)
4			HEV陽性血漿 ($>3 \times 10^3$ IU/mL)
5			陰性血漿
6	低濃度PVB19陽性検体	PVB19 300	HBV陽性血漿 ($>3 \times 10^3$ IU/mL)
7			HCV陽性血漿 ($>3 \times 10^3$ IU/mL)
8			HIV-1陽性血漿 ($>3 \times 10^3$ IU/mL)
9			HEV陽性血漿 ($>3 \times 10^3$ IU/mL)
10			陰性血漿
11	陰性検体	—	陰性血漿

日を変えて3回ずつ測定