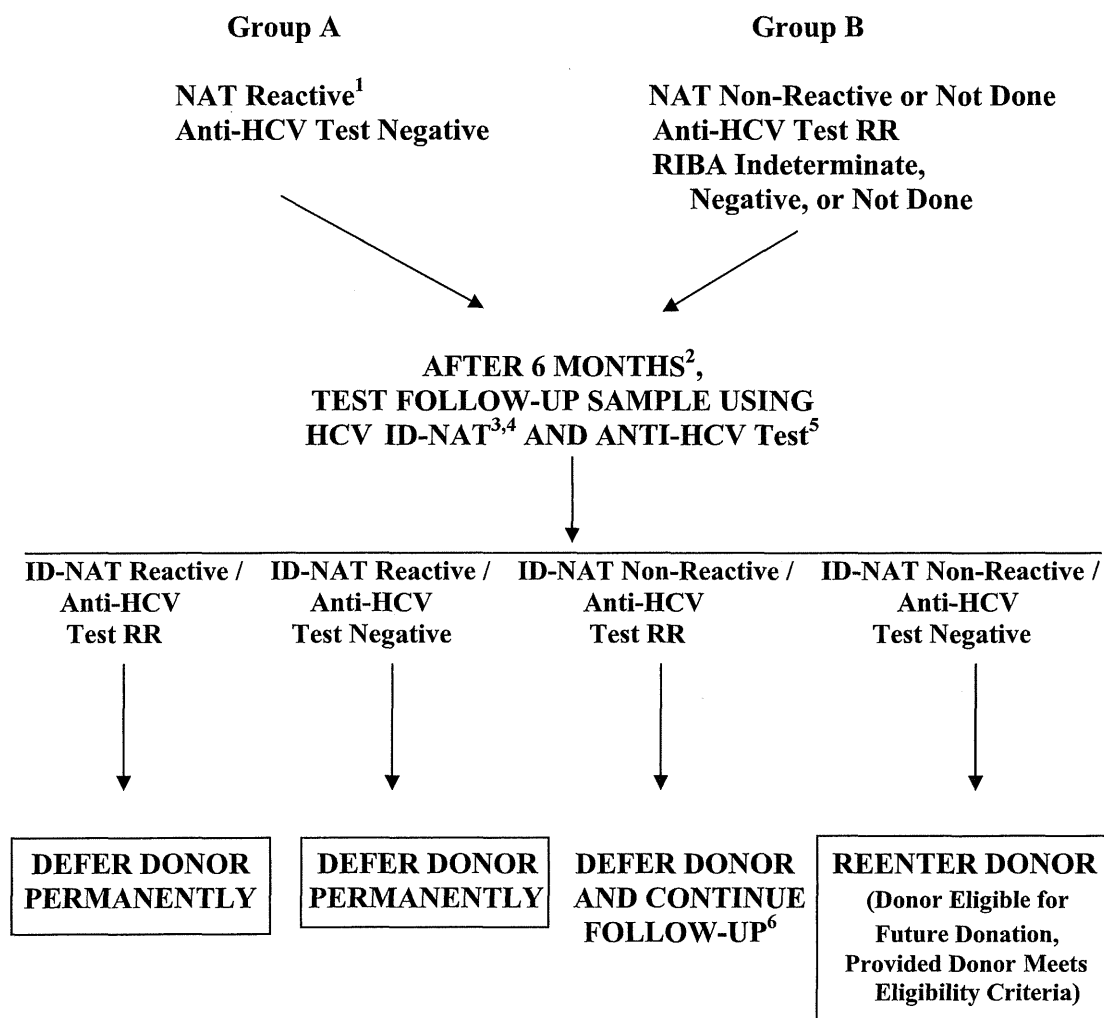


Contains Nonbinding Recommendations

FIGURE 6. Reentry for Donors Deferred Because of Reactive HCV Test Results



Footnotes for FIGURE 6.

¹ Reactive on a Discriminatory NAT for HCV or on a Single Virus NAT for HCV.

² HCV ID-NAT and/or an anti-HCV test, if performed prior to 6 months, must be negative for the donor to be eligible for reentry.

³ If the original donor sample was reactive on both of the Discriminatory NAT tests for HIV-1 and HCV, test a follow-up sample using HIV-1 ID-NAT and an anti-HIV-1/2 test also, as in the HIV-1 Reentry Algorithm (see Figure 5).

⁴ If the original donor sample was reactive on the NAT for HCV (Group A donors), we recommend that you use the same ID-NAT (i.e., the Discriminatory NAT for HCV or the Single Virus NAT for HCV) that was run on the original donor sample. If the original NAT is no longer available (e.g., an investigational NAT) we recommend you use a NAT that has the same sensitivity claims as the original NAT or greater sensitivity claims.

Contains Nonbinding Recommendations

⁵ If the original donor sample was RR on the anti-HCV test (Group B donors) we recommend that you use the same test or a later, more sensitive version (i.e., HCV EIA version 3.0 or later) to test this follow-up sample.

⁶ At your option you may further test the donor's sample using HCV RIBA. If RIBA is negative or indeterminate, you may reconsider the donor for reentry by conducting follow-up testing after one or more additional waiting period of 6 months. If RIBA is positive, we recommend that you defer the donor permanently.

Contains Nonbinding Recommendations

TABLE 6. Reentry for Donors Deferred Because of Reactive HCV Test Results

<i>If:</i>	<i>Then:</i>	<i>After that if:</i>	<i>Then:</i>
Group A: NAT Reactive ¹ Anti-HCV Test Negative OR Group B: NAT Non-Reactive or Not Done Anti-HCV Test RR RIBA Indeterminate, Negative, or Not Done	After 6 months ² , test follow-up sample using HCV ID-NAT ^{3,4} and Anti-HCV Test ⁵	ID-NAT Reactive/ Anti-HCV Test RR	Defer donor permanently
		ID-NAT Reactive/ Anti-HCV Test Negative	Defer donor permanently
		ID-NAT Non-Reactive/ Anti-HCV Test RR	Defer donor and continue follow-up ⁶
		ID-NAT Non Reactive/ Anti-HCV Test Negative	REENTER DONOR (Donor eligible for future donation, provided donor meets eligibility criteria)

Footnotes for TABLE 6.

¹ Reactive on a Discriminatory NAT for HCV or on a Single Virus NAT for HCV.

² HCV ID-NAT and/or an anti-HCV test, if performed prior to 6 months, must be negative for the donor to be eligible for reentry.

³ If the original donor sample was reactive on both of the Discriminatory NAT tests for HIV-1 and HCV, test a follow-up sample using HIV-1 ID-NAT and an anti-HIV-1/2 test also, as in the HIV-1 Reentry Algorithm (see Figure 5).

⁴ If the original donor sample was reactive on the NAT for HCV (Group A donors), we recommend that you use the same ID-NAT (i.e., the Discriminatory NAT for HCV or the Single Virus NAT for HCV) that was run on the original donor sample. If the original NAT is no longer available (e.g., an investigational NAT) we recommend you use a NAT that has the same sensitivity claims as the original NAT or greater sensitivity claims.

⁵ If the original donor sample was RR on the anti-HCV test (Group B donors), we recommend that you use the same test or a later, more sensitive version (i.e., HCV EIA version 3.0 or later) to test this follow-up sample.

⁶ At your option you may further test the donor's sample using HCV RIBA. If RIBA is negative or indeterminate, you may reconsider the donor for reentry by conducting follow-up testing after one or more

Contains Nonbinding Recommendations

additional waiting period of 6 months. If RIBA is positive, we recommend that you defer the donor permanently.

Contains Nonbinding Recommendations

VI. REFERENCES

1. FDA Memorandum to All Registered Blood Establishments: "Revised Recommendations for the Prevention of Human Immunodeficiency Virus (HIV-1) Transmission by Blood and Blood Products," April 23, 1992.
2. FDA Memorandum to All Registered Blood and Plasma Establishments: "Recommendations for Donor Screening with a Licensed Test for HIV-1 Antigen," August 8, 1995.
3. FDA Memorandum to All Registered Blood Establishments: "Revised Recommendations for Testing Whole Blood, Blood Components, Source Plasma and Source Leukocytes for Antibody to Hepatitis C Virus Encoded Antigen (Anti-HCV)," August 5, 1993.
4. Busch MP. Closing the windows on viral transmission by blood transfusion. In Stramer SL ed. *Blood Safety in the New Millennium*. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks, 2001: Chapter 2, p.36.
5. Glynn SA, Kleinman SH, Wright DJ, Busch MP. International application of the incidence rate/window period model. *Transfusion* 42:966-972 (2002).
6. Dodd RY, Notari EP, Stramer SL. Current prevalence and incidence of infectious disease markers and estimated window period risk in the American Red Cross blood donor population. *Transfusion* 42:975-979 (2002).
7. Fiebig EW, Wright DJ, Rawal BD, et. al. Dynamics of HIV-1 viremia and antibody seroconversion in plasma donors: Implications for diagnosis and staging of primary HIV-1 infection. *AIDS* 17:1871-1879 (2003).
8. Federal Register, December 14, 1999 (64 FR 71147), Guidance for Industry: In the Manufacture and Clinical Evaluation of *In Vitro* Tests to Detect Nucleic Acid Sequences of Human Immunodeficiency Viruses Types 1 and 2, December 1999.
9. Federal Register, August 24, 2007 (72 FR 48765), Current Good Manufacturing Practice for Blood and Blood Components; Notification of Consignees and Transfusion Recipients Receiving Blood and Blood Components at Increased Risk of Transmitting Hepatitis C Virus Infection ("Lookback"); Final Rule.
10. Blood Products Advisory Committee, 69th Meeting, June 14, 2001, <http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/cber01.htm>-Blood Products Advisory Committee.
11. Alter HJ. To C or not to C: These are the questions. *Blood* 85:1681-1695 (1995).

Contains Nonbinding Recommendations

12. Centers for Disease Control, Recommendations for prevention and control of hepatitis C virus (HCV) infection and HCV-related chronic disease. *MMWR* 47, (RR-19) (1998).

Guidance for Industry Use of Nucleic Acid Tests on Pooled and Individual Samples from Donors of Whole Blood and Blood Components, including Source Plasma, to Reduce the Risk of Transmission of Hepatitis B Virus. DRAFT GUIDANCE, Food and Drug Administration Center for Biologics Evaluation and Research November 2011 の要旨

全血、血液コンポーネント及び原料血漿の HBV の伝播リスクを低減化するためのミニプール及び個別 NAT を用いる際のガイダンス案 (FDA 2011 年)

I. ガイドライン案の背景

I-1 HBV NAT によるドナースクリーニングを実施する理由

HBV は人に急性肝炎や慢性肝炎を引き起こし、さらには肝がんの原因ともなる(5)。成人で HBV に感染すると大部分のヒトはウイルスが血中からはクリアランスされ、持続性の免疫反応が形成される。成人で HBV に感染した場合キャリアー化するのは 5% 以下である。しかし幼児期に感染すると慢性の HBV ウイルスの感染状態になり、少年期の後期や成人になっても慢性的な感染を引き起こすことになる (いわゆるキャリアーである)。健康管理防御センターが 2004 年に出したデータによると、事前に免疫反応のない成人が HBV に感染した場合にキャリアーになるのは 1% ぐらいであると言われており、5 歳以上の幼児が感染した場合には 2-10% がキャリアーになると言われている。5 歳以下の幼児の場合には 30-90% が慢性的な感染が成立してしまう(6)。さらに、輸血を受ける多くの患者は免疫状態が抑制されていることからより HBV が持続感染しやすいとされている。HBV のキャリアーになった患者の約 20% が肝硬変になると言われている。HBV キャリアーは非感染者に比較して 100 倍肝がんになりやすいと言われている(5)。

HBV は HIV や HCV より血液輸血で伝播の頻度が高い。HBV の感染率はおおよそ 1/357000 から 1/280000 の確立であると推定されている。HIV と HCV はそれぞれ 1/1467000 及び 1/1149000 と推定されている(7)。HBV NAT を実施することにより、HIV や HCV と同様に HBV の感染リスクを低減できる。HBsAg や抗 HBc 抗体の兆候がない血液でかつ HBV DNA 陽性の血液ドナーであれば HBV の感染が成立してしまう(8-9)。HBsAg と HBV NAT の感度の比較をすると、HBV DNA は感染後 2-5 週で検出できるようになり、HBsAg が検出できる前の最高で 40 日前(平均では 6-15 日前)に検出できるとされている(6)。HBV DNA は比較的ゆっくりと上昇し、血清学的なウインドウ期での血中レベルは低いとされている。HBV DNA はウインドウ期のみならずキャリアー期の HBsAg や抗 HBc コア抗体と共に検出されることもあるし、一部の献血者では HBsAg 陰性で抗 HBs 抗体や HBc コア抗体が陰性にもかかわらず HBV 感染が起こることもある (5,10)。非常にまれであるが、HBsAg 陰性で抗 HBs 抗体や HBc コア抗体が陰性にもかかわらず HBV DNA

が検出されることもある(11)。

HBc コア抗体が血液検査として実施されている。HBc コア抗体は HBsAg が検出されるようになって数日で検出可能になり、HBV 感染が起こったことを見出すマーカーとして機能している。従って HBc コア抗体検査の特徴からすると HBV NAT の方が輸血により HBV の感染を防御するという観点からは有用である。(HBsAg の検出よりもウインドウ期を 40 日ほど短くすることが可能になる。

最近全血あるいは血液コンポーネントを用いた HBV NAT 検査が FDA より承認されている。この HBV NAT を用いた検査キット (Roche 社の COBASAmpliScreen で 24 ミニプールまでに対応している) について、FDA は 2005 年の時点では HBV NAT スクリーニング検査として推薦してこなかった。その時点の FDA の判断は、Health and Human Services Secretary Advisory Committee on Blood Safety and Availability の推薦によっている。委員会では、ドナーの HBV 検出に関するデータに加え、コスト効果バランスの評価、実施可能性、公衆衛生を考慮して答申がだされた。FDA のその時点の大きな懸念は、HBV NAT の検出感度であり、血清学検査の感度を十分に上回るだけの安全性のマーヅンが得られるわけではないとの判断であった。その時点のミニプールのサンプルサイズは 24 人であり、これは個別 NAT よりも 1/24 に希釈されることを意味している。

その後、2005 年から今日まで次のような状況変化があった。

1. FDA は COBAS に加えて他の HBV NAT 検査薬を承認している。これらの検査キットは 6-16 のミニプール血漿を対象としている。さらに Multiplex 検査を採用しており、HBV のみならず HCV や HIV を同時に測定できるようにルーチン検査としての適用しやすくなっている。FDA は原料血漿や血漿分画製剤用のスクリーニングで事前の採血での血漿検査に対応する PCR 検査キットを承認している。これは市販されているものではなくインハウスキットで用いるものとして承認されている。
2. 検査のための血漿のプーリングや他の処理を自動化する動きが進んでおり、このためにミニプールの作製が容易になってきている。また自動化技術の進展により個別 NAT も容易になりつつある。
3. HBV ワクチン効果の持続性が完璧ではないために HBV ワクチンをしていても受血により HBV の感染するリスクがあることが分かってきた。HBV のワクチンを受けた患者が HBV に感染することをブレイクスルー感染と呼ぶが、HBV NAT 陽性で、中和能をもつ抗 HBs 抗体陽性、低濃度のウイルス感染と無症候と特徴としている。低濃度の HBV 感染では血中 HBsAg の出現や HBc 抗体の出現が起こらないことが知られており、特にワクチン接種者で内在性の抗体があるにもかかわらず感染した場合には抗体や抗原の出現が起こらないことが知られている。

HBV のブレイクスルー感染では HBsAg や抗 HBc 抗体の出現が遅れたり、あるいはまったく起こらないことがありえる。HBV NAT が開発されてくるに従い、HBV の初期感染の検出ができるようになった。さらに、HBV ワクチンを受けた集団が非常に多くなってきたことより、ドナーの適格性の判断にワクチン接種者のことを考える必要が出てきている。HBV の通常の感染よりも、HBV ブレイクスルーによる感染が増えつつあることを考慮する必要が出てきている。このようなブレイクスルーによる無症候の HBV 感染者では、HBsAg や HBc コア抗体の出現が送れるので感染初期での HBV DNA の存在を HBV NAT により検査することが有用になってくる。さらに HBV ミュータントの検出には HBsAg を検出する血清学的試験よりも HBV NAT の方がより検出がされやすいことも重要な考慮事項である。

非常に多くの論文で HBV DNA 陽性／抗 HBs 抗体陽性／HBsAg 陰性の血液は HBc 抗体の有無にかかわらず HBV の伝播が起こらないとする報告が多数出されている (10-11, 12-15)。しかし一方で、このような献血者であったとしても HBV の伝播が起こる可能性あるとする報告もある (16-17)。さらに一報だけであるが HBV DNA 陽性／抗 HBs 抗体陽性／HBsAg 陰性の献血者からの血液で HBV の伝播が起こったとする報告もある (18)。従って、HBV NAT 陽性の HBV ワクチン接種者、中和抗体があることから感染性を有しないと根拠はないようである。また、従血者の病的状態や致死性の疾患の罹患状況では免疫反応が抑制されている可能性が高くより感染がより起こりやすい可能性がある。

2009年にBPAC会議でブレイクスルー感染を起こしているドナーからの献血により患者がHBVを発症しないと根拠はないとのFDAの立場を委員会が支持する答申を出した(19)。そこで、本ガイドラインにあるように、FDAは全ての輸血用血液についてFDAが承認したHBV NATを実施することを推奨することにした。委員会は同時に血液及び血液コンポーネントについて個々のバックにつき200IU/ml以上の感度を要求するとしてFDAの立場についても支持した。しかし、2009年からのその後の技術的な進展もあることから、個々のドナーバックについて100IU/mlの感度を要求することとしている。技術的な進展や自動化装置の導入により100IU/mlは十分達成可能な感度であり輸血用血液の精度として実施可能であると判断している。

一方分画製剤については、注射用製剤としてさらなる精製工程があることから原料血漿の抗HBs抗体が存在することに加え、精製工程でウイルス不活化除去工程があること、原料血漿に混入してくるウイルス量がわずかであろうと考えられることから輸血用血製剤に比べて異なる安全性リスクの判断があってもよいと考えている。2011年のBPAC会議で、現時点での科学的な観点から原料血漿に対してHBV NATを実施することは安全性のマージ

ンを広げることにつながるとの FDA の判断が支持された。

そこで FDA は血漿分画製剤についても FDA が承認した HBV NAT を実施することを推奨することにした。血漿分画製剤はウイルス不活化・除去工程があることから、FDA はその感度として 100IU/ml ではなく 500IU/ml でよいと推奨している。これらの感度については BPAC で支持された。

血漿分画製剤と同様に原料白血球より製造される製品の HBV 安全性については同様にウイルス不活化・除去工程がある。しかし、白血球由来製品は全血から製造されることから、HBV NAT の感度として輸血用血液製剤と同様に 100IU/ml とすることを推奨している。

I-2 ドナーの再評価

610.41(b)条には、献血延期となったドナーは FDA による適格性基準に照らして再度適格性を評価した後に血液や、血液コンポーネントの出荷の妥当性が判断される。

BPAC 委員会は HBV NAT 陽性となった献血者の全血及び血液コンポーネントの再評価基準の提案を了承した。陽性結果の出されてから 6 か月後に実施される HBsAg、抗 HBc 抗体、及び HBV DNA の NAT による検査が 6 ヶ月後で陰性であること示され、HBV の感染性が否定されればよいとしている。このために実施される NAT の検査では FDA が承認する HBV NAT で 95%の検出感度が 2 IU/ml 以下であることが求められるとした。これは 10 コピー/ml 以下の感度に匹敵する。この感度の HBV DNA が否定されることになると HBV の感染性は通常否定されるとされている(20)。

II. 推奨

II-1 HBV NAT を用いたドナースクリーニング

610.40(b)条に従って、FDA に承認された試験法でスクリーニングを実施する必要がある。複数のスクリーニング検査により HBV をはじめとするウイルス伝播のリスクを低減化することが求められる。

1. 輸血用及び白血球由来製品の製造のための全血及び血液コンポーネントのための 610.40(b)条にしたがって、HBsAg や HBc コア抗体に加えて HBV DNA を検出するための FDA が承認した NAT 検査を実施することを推奨している。FDA が承認した HBsAg や HBc コア抗体が陰性あるいは反応性が無いことを確認した上で、FDA が承認した HBV NAT を用いてドナースクリーニングを実施しなければならない。またその感度としては 100IU/ml であることが求められるとした。FDA が承認した HBV のスクリーニングにはミニプール検体もあるし、個別検体もある。また HIV や HCV を同時に検出する Multiplex NAT も含まれるし、ウイルスごとの NAT もあり得る。HBV NAT と同時に HBsAg や HBc コア抗体の検査を行うことも可能である。

2. 610.40(b)条にしたがって血漿分画製剤のスクリーニング試験として HBsAg の検査を実施しなければならない。HBsAg の検査が陰性であるか反応性が認められない場合には、FDA は個別ドナーのレベルで 500IU/ml HBV DNA 以下の感度で HBV NAT を実施することを強く推奨する。FDA が承認した HBV NAT ではミニプール検体を用いてもよいし個別検体でもよい。また Multiplex NAT で HCV と HIV を同時に検出してもよいし、HBV のみを検出する個別 NAT でもよい。HBsAg と HBV DNA の NAT を同時に実施してもよい。しかし、FDA は血漿分画製剤の原料血漿試験として HBc コア抗体試験を推奨はしていない。

610.40(h)(1)条にしたがえば、FDA が承認した検査試薬を用いて HBsAg 陽性あるいは HBc コア抗体陽性が検出された場合には献血血液を出荷及び投与はすべきでないとしている。この場合、製造業者は HBV の基準にしたがってバックの廃棄やドナーの献血停止など対応をしていると考えられ、このようなケースでは FDA が承認した HBV NAT を実施する必要性はない。しかし、ドナーに関する有用な情報が得られることから FDA が承認している HBV NAT をこのような血清学的試験で陽性になったドナーに対して行うこともできる。また、リエントリーのためのデータを得るために HBV NAT を実施することも可能である。

610.40(h)(1)条にしたがえば、HBsAg の補助的な試験として HBsAg の反応性を確認するための試験を実施する必要がある。あるいは偽陽性であることを確認する試験として、中和試験や HBV NAT を実施することも必要である。HBV NAT 検査で HBV DNA が陰性であるドナー血液が繰り返し HBsAg 試験で陽性である場合には HBsAg 中和試験を実施すべきである。この場合、調和試験の結果は記録しておく必要がある。現在 HBc コア抗体試験は FDA が承認したものはないが、HBc コア抗体試験陽性のドナーは文献 3 に従って再評価することができる(3)。

II-2. ドナーと HBV 試験結果を考慮した輸血ユニットの管理

1. HBV DNA NAT 検査結果の陰性であったドナーの輸血バックの管理
 - a. 個別 NAT でもミニプール NAT でも陰性であった場合には、FDA のガイダンスに従い適格性が示されていると考えてよく、出荷可能である。
 - b. HBV NAT、HBsAg、及び HBc コア抗体試験が陰性であり、他の感染因子のスクリーニングにより適格性が示されることにより、全血及び血液コンポーネントのバックの輸血が可能でありさらには原料白血球を用いた製造を実施してよい。
 - c. 原料血漿及び全血から調製した血漿について FDA が承認した HBV NAT 及び HBsAg が陰性であることが確認されることにより次の工程に移行できる。
2. HBV DNA NAT 結果が陽性であった場合のドナーとバックの管理(表 3)

- a. ミニプールで陽性になった検体の個別 NAT ないしは再構成してマトリックスを組むことによって特定された HBV DNA 陽性と NAT で示された採血バックは全血及び血液コンポーネント、原料白血球の製造に用いてはならない。
- b. HBV NAT 陽性ドナーについては献血を延期すること、さらにドナーに陽性であることを通知しなければならない。NAT 及び血清学的試験次の様な結果が得られたドナーは全血及び血液コンポーネント、原料白血球の製造原料として永遠に延期すべきである。
 - i) HBV NAT 陽性、HBsAg が繰り返し反応性あり中和活性や NAT を用いた確認試験で陽性が確認された場合、ただし HBc 抗体の有無にかかわらない
 - ii) HBV NAT 陽性で HBsAg のシグナルが繰り返し認められさらに中和活性により確認できない場合であって HBc コア抗体が繰り返し反応性がある場合
- c. 次のような HBV 試験が陽性反応を示す場合にはドナーの献血延期をしなければならない
 - i) HBV NAT 陽性、HBsAg シグナルの反応性が認められない場合であって HBc 抗体が繰り返し反応性がある場合
 - ii) HBV NAT 陽性で HBsAg 及び HBc コア抗体の反応性がない場合
 - iii) NAT 試験により HBV NAT 陽性で HBsAg の繰り返しの反応性が中和活性により確認できない場合であって HBc コア抗体の反応性がない場合
- d. 表4のカテゴリー1から3の結果が得られた場合には FDA が特別に承認した場合を除いて HBV 個別 NAT 陽性の原料血漿バックは廃棄しそれ以降の製造工程に進めることは出来ない。
- e. HBV 試験で陽性であったドナーに対してはその結果を津位置する義務がある。HBV NAT 陽性で HBsAg に関して繰り返し陽性でありかつ追加試験で中和が確認された場合、ドナーからの献血は永久に延期されなければならない(表4、カテゴリー1)
- f. 表4のカテゴリー2と3では、ドナーの献血を延期しなければならないか、条件によってリエントリーが可能になる。

B. 陽性検体のホローアップとして HBV NAT 及び HBV 血清学的試験に基づいたドナーの再評価

HBV 陽性であったドナーのリエントリー条件について記載されている。リエントリーでは HBV NAT の検出感度を 95%の確立で検出される感度を 2IU/ml 以下の HBV DNA を検出できるように設定されていなければならない。

<USP NAT 試験法>

I. 序論に引き続き NAT アッセイに用いる試薬等について一般的考慮事項を詳細に説明して

いる。耐熱酵素、反応液や反応液の組成、プライマーの最適条件について説明がされている。NAT アッセイについても、アッセイごとに特徴を例示し、PCR については通常の PCR のみならず nested PCR、RT-PCR とその増幅産物の検出条件、Real-time PCR や Real-time RT-PCR についてのアッセイ条件の最適化などについて、プライマー以外にプローブの設定について情報提供されている。また、Real-time PCR や Real-time RT-PCR の定量性について情報が記載されている。

II. NAT の品質保証と品質管理

NAT の品質管理で問題となる別々に実施した NAT の増幅産物が新たに調製した NAT の反応液に混入することにより擬陽性を引き起こすなど測定結果に間違いをもたらす可能性が高いことや最適条件以外での試験条件では偽陰性の可能性があることから、厳密な品質保証と品質管理必要としている。そのための試料調製室や増幅室などの NAT 関連施設の設計や管理、資料の調整、ゲノムの抽出、ゲノム増幅、シグナルの検出等の導線の管理、機器の管理などが重要としている。また、ICH Q2B ガイドラインである「分析法バリデーション」を参照することが推奨されている。

II-1. 実験室の品質保証と品質管理

NAT 測定室のデザインは増幅した NAT 産物を新たな NAT 試験に混入させないような設計がされている必要がある。PCR の開発初期よりクロスコンタミネーション(交差汚染)が問題にされていたことと同様に、如何に交差汚染を防ぐかが他の NAT アッセイでも重要な課題である。PCR を例にとると、増幅するためのゲノムの調製、PCR マスターミックスの調製、個々の反応チューブへのマスターミックスの添加、ゲノムテンプレートの添加等を実施する部屋、PCR 反応を行う部屋、場合によっては PCR 産物を測定するための部屋などが必要となる。これらのスペースは閉鎖系を用いる場合には不要とされる。汚染の防止として実験室を使用時以外に UV 照射しておくことも有用である。もし汚染が起きた場合には 10% ブリーチによる機材の洗浄が PCR 産物を分解するのに有用とされている。

II-2. 測定機器や機材の品質保証と品質管理

NAT における GLP 対策としては、PCR 産物の汚染を防ぎ使用する機器をクリーンな状態にしておくことが重要である。チップ等はフィルター付の使い捨てのものを使用し、プライマーやプローブの管理も重要である。

II-3. PCR 産物の交差汚染を防ぐための Urasil-N-Glycosylase

PCR 産物が次の PCR 反応液を作製したときに混入していた場合に、Urasil-N-Glycosylase (UNG) を添加することによりその分解をする作用がある。

II-4. NAT システムのバリデーション

NAT 分析法のバリデーションでは、

- ① 使用する試薬の品質や一定性を担保することにより達成される。
- ② NAT アッセイにおける再現性、正確性、堅牢性、頑健性、特異性、精度、分析及び臨床的な感度を担保することにより達成される

臨床的な感度は 95%の確立で検出される限度値で表されが、分析法上の感度は検出限界の参照品の濃度で規定される。

アッセイバリデーションの対象となる基本的なステップは

- (1) 試料の調製
- (2) 重要な試薬を一定性担保
- (3) コントロールや濃度校正用品、定量用校正品の使用
- (4) 目的試料や試薬の安定性
- (5) 機器やソフトウェアの機能
- (6) 作業者の教育訓練
- (7) 実験室のサーベイランス

などである。

Guidance for Industry

Use of Nucleic Acid Tests on Pooled and Individual Samples from Donors of Whole Blood and Blood Components, including Source Plasma, to Reduce the Risk of Transmission of Hepatitis B Virus

DRAFT GUIDANCE

This guidance is for comment purposes only.

Submit one set of either electronic or written comments on this draft guidance by the date provided in the *Federal Register* notice announcing the availability of the draft guidance. Submit electronic comments to <http://www.regulations.gov>. Submit written comments to the Division of Dockets Management (HFA-305), Food and Drug Administration, 5630 Fishers Lane, Rm. 1061, Rockville, MD 20852. You should identify all comments with the docket number listed in the notice of availability that publishes in the *Federal Register*.

Additional copies of this guidance are available from the Office of Communication, Outreach and Development (OCOD) (HFM-40), 1401 Rockville Pike, Suite 200N, Rockville, MD 20852-1448, or by calling 1-800-835-4709 or 301-827-1800, or e-mail ocod@fda.hhs.gov, or from the Internet at <http://www.regulations.gov>, <http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/default.htm>.

For questions on the content of this guidance, contact OCOD at the phone numbers or e-mail address listed above.

**U.S. Department of Health and Human Services
Food and Drug Administration
Center for Biologics Evaluation and Research
November 2011**

Contains Nonbinding Recommendations

Table of Contents

I.	INTRODUCTION.....	1
II.	DEFINITIONS	2
III.	BACKGROUND	3
	A. Rationale for Donor Screening Using HBV NAT	3
	B. Donor Requalification	7
IV.	RECOMMENDATIONS.....	7
	A. Donor Screening Using HBV NAT	7
	B. Management of Donors and Units Based on Hepatitis B Test Results	9
	C. Requalification Methods for Donors on the Basis of HBV NAT and HBV Serologic Test Results on the Follow-Up Sample.....	12
V.	LABELING	15
	A. Circular of Information for Whole Blood and Blood Components Intended for Transfusion.....	15
	B. Blood Components Intended for Further Manufacture.....	15
	C. Reactive Units and Product Disposition	15
VI.	REPORTING CHANGES TO AN APPROVED APPLICATION.....	16
	A. Test Implementation.....	16
	B. Labeling	17
	C. Procedures for Requalification of Donors	17
VII.	REFERENCES.....	18

Contains Nonbinding Recommendations

Guidance for Industry

Use of Nucleic Acid Tests on Pooled and Individual Samples from Donors of Whole Blood and Blood Components, including Source Plasma, to Reduce the Risk of Transmission of Hepatitis B Virus

This draft guidance, when finalized, will represent the Food and Drug Administration's (FDA's) current thinking on this topic. It does not create or confer any rights for or on any person and does not operate to bind FDA or the public. You can use an alternative approach if the approach satisfies the requirements of the applicable statutes and regulations. If you want to discuss an alternative approach, contact the appropriate FDA staff. If you cannot identify the appropriate FDA staff, call the appropriate number listed on the title page of this guidance.

I. INTRODUCTION

We, FDA, are providing you, blood establishments that collect Whole Blood and blood components for transfusion or for further manufacture, including recovered plasma, Source Plasma and Source Leukocytes; with recommendations concerning the use of FDA-licensed nucleic acid tests (NAT) to screen blood donors for hepatitis B virus (HBV) deoxyribonucleic acid (DNA). We are also providing you with recommendations for product testing and disposition, donor management, methods for donor requalification, and product labeling.

In addition, we are notifying you in this guidance that we consider the use of an FDA-licensed HBV NAT to be necessary to reduce adequately and appropriately the risk of transmission of HBV. FDA-licensed HBV NAT can detect evidence of infection at an earlier stage than is possible using previously approved hepatitis B surface antigen (HBsAg) and antibody to hepatitis B core antigen (anti-HBc) tests. Therefore, we recommend that you use FDA-licensed HBV NAT, in accordance with the requirements under Title 21 Code of Federal Regulations, 610.40(a) and (b), (21 CFR 610.40(a) and (b)).

This guidance supplements previous memoranda and guidance from FDA to blood establishments concerning the testing of donations for HBsAg and anti-HBc, and the management of donors and units mentioned in those documents (Refs. 1 through 5). Note that testing Whole Blood and blood components for transfusion and Source Leukocytes for further manufacture for HBsAg and anti-HBc, and Source Plasma for HBsAg should continue when a blood establishment implements HBV NAT.¹ FDA may consider advancements in technology

¹ FDA does not currently recommend that Source Plasma donors be tested for anti-HBc. If anti-HBc reactive units were excluded from pools used for the manufacture of plasma derivatives, titers of neutralizing antibody to hepatitis B surface antigen (anti-HBs) in those pools would be expected to diminish, as both these antibodies usually occur together. The presence of neutralizing anti-HBs is believed to contribute to the safety of certain plasma products. (Ref. 2). Plasma units that are untested, non-reactive (NR), or repeat reactive (RR) for anti-HBc are currently acceptable for the manufacture of plasma derivatives (Ref. 2). Consistent with § 610.40(h)(2)(v), recovered plasma

Contains Nonbinding Recommendations

for testing blood donations, as well as data obtained following the implementation of HBV NAT, to make future recommendations on adequate and appropriate testing for HBV.

FDA's guidance documents, including this guidance, do not establish legally enforceable responsibilities. Instead, guidances describe the FDA's current thinking on a topic and should be viewed only as recommendations, unless specific regulatory or statutory requirements are cited. The use of the word *should* in FDA's guidances means that something is suggested or recommended, but not required.

II. DEFINITIONS

Discriminatory NAT: A NAT that uses specific primers for HIV-1 or HBV or HCV to identify the RNA or DNA in the reactive multiplex NAT sample as HIV-1 RNA or HBV DNA or HCV RNA. Performing a Discriminatory NAT on a reactive sample is a required step for those establishments using an approved multiplex test. The labeling for licensed multiplex NATs specifies that Discriminatory NAT is to be performed. Under § 610.40(b) (21 CFR 610.40(b)), you must use FDA-approved screening tests in accordance with the manufacturer's instructions.

Donor Reentry: A procedure that qualifies a deferred donor as eligible to donate again. Donor reentry procedures may be used following a false positive test result and typically require the passage of time to allow for possible seroconversion prior to the performance of additional serologic testing and NAT.

HBV NAT assay with a limited supplemental test indication: Some HBV NAT assays have received a limited supplemental indication for repeatedly reactive HBsAg test results. If a donation tests HBV NAT-positive for HBV DNA using an HBV NAT with such a limited supplemental test indication, and if that donation also tests HBsAg repeatedly reactive in a screening test, the HBsAg test result can be recorded as HBsAg positive. In this case, an HBsAg neutralization test need not be performed. However, if a donation tests HBV NAT-negative for HBV DNA using an HBV NAT with such a limited supplemental test indication, and if that donation tests HBsAg repeatedly reactive in a screening test, an HBsAg neutralization test should be performed. In this case, the result of the neutralization test serves as the test of record. (Ref. 1)

Minipool: A pool of donor samples on which NAT (minipool NAT or MP-NAT) is performed as a screening test. A minipool is formed by pooling of samples from subpools or by directly pooling samples from individual donors.

Multiplex NAT: A NAT that simultaneously detects HIV-1 RNA, HBV DNA, and HCV RNA.

Single Virus NAT: A NAT that separately detects either HIV-1 RNA or HBV DNA or HCV RNA.

from donations of Whole Blood that test anti-HBc reactive may be used for further manufacture into plasma derivatives.

Contains Nonbinding Recommendations

III. BACKGROUND

Under § 610.40(a), establishments that collect blood or blood components must test each donation of human blood or blood component intended for use in preparing a product, including donations intended as a component of, or used to prepare a medical device, for evidence of infection due to certain communicable disease agents, including HBV. In addition, under § 610.40(b), you must perform one or more such tests as necessary to reduce adequately and appropriately the risk of transmission of communicable disease.

Currently, all Whole Blood and blood components intended for transfusion and all Source Leukocytes intended for further manufacture are routinely tested for HBsAg and anti-HBc in order to reduce the risk of transmission of HBV (Refs. 1, 2, 3 and 5). In addition, all Source Plasma collections intended for further manufacture into plasma derivatives are routinely tested for HBsAg in order to reduce the risk of transmission of HBV in manufacturing pools of plasma derivatives.²

In the preamble to the final rule entitled “Requirements for Testing Human Blood Donors for Evidence of Infection Due to Communicable Disease Agents,” published in the *Federal Register* of June 11, 2001 (66 FR 31146), we discussed the approved donor screening tests that we considered, as of that date, to be necessary to reduce adequately and appropriately the risk of transmission of HBV. We also stated that as technology advances, we intend to issue guidance describing those tests that we consider to reduce adequately and appropriately the risk of transmission of communicable disease agents. Accordingly, in this draft guidance document, we are notifying you that we consider FDA-licensed HBV NAT to be necessary to reduce adequately and appropriately the risk of transmission of HBV.

We note that the tests referenced in this document have been licensed by FDA for the screening of blood donors for HBV DNA and have the ability to detect the evidence of infection at an earlier stage than is possible using previously approved HBsAg and antibody to hepatitis B core antigen (anti-HBc) tests. Because FDA-licensed HBV NAT are now widely available, we recommend that establishments use these tests, in accordance with § 610.40.

A. Rationale for Donor Screening Using HBV NAT

Hepatitis B virus is a major human pathogen that may cause acute and chronic hepatitis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma (Ref. 6). Most primary infections in adults are self-limited, the virus is cleared from blood and liver, and individuals develop a lasting immunity. Fewer than 5% of infected adults develop persistent asymptomatic infections (i.e., a carrier state). However, infants and young children have a much higher likelihood of developing a chronic hepatitis B infection than do older children and adults. According to data obtained in 2004 from the Centers for Disease Control and Prevention, about 1% of adults without other preexisting conditions are estimated to get chronic hepatitis B if infected, but 2% to 10% of children more than 5 years of age get chronic

² See Footnote 1.

Contains Nonbinding Recommendations

hepatitis B, and 30% to 90% of children less than 5 years of age develop chronic hepatitis B if infected (Ref. 7). In addition, many patients receiving blood are immunocompromised because of their underlying disease and/or because of medications that suppress the immune system making them more susceptible to severe HBV infection than otherwise healthy individuals. About 20% of chronically infected individuals can develop cirrhosis. Chronically infected subjects have 100 times higher risk of developing hepatocellular carcinoma than non-carriers (Ref. 6).

Currently, HBV is transmitted by blood transfusions more frequently than hepatitis C virus (HCV) or human immunodeficiency virus (HIV). The residual risk of post-transfusion HBV infection is estimated to be about 1:357,000 to 1:280,000 per transfusion. In comparison, those risks for HIV and HCV are estimated to be 1:1,467,000 and 1:1,149,000, respectively (Ref. 8). Depending on the sensitivity of the test, implementation of HBV NAT has the potential to reduce risk to levels similar to those for HIV and HCV. HBV can be transmitted by blood from asymptomatic donors with acute HBV infections who have not yet developed HBsAg or anti-HBc (i.e., donors in the seronegative window period), when HBV DNA can be detected in the donor's blood (Refs. 9 and 10). Depending on the relative sensitivities of HBsAg and HBV NAT assays used, HBV DNA can be detected 2 to 5 weeks after infection, and up to 40 days (mean 6 to 15 days) before HBsAg (Ref. 7). HBV DNA levels rise slowly and are present at relatively low levels during the seronegative window period of early infection. HBV DNA can also be detected along with HBsAg and anti-HBc in chronic hepatitis B infections, and sometimes in recovered infections that are negative for HBsAg and positive for antibodies to hepatitis B surface antigen (anti-HBs) and anti-HBc (Refs. 6 and 11). Rarely, HBV DNA can be detected in the absence of HBsAg, anti-HBc and anti-HBs (Ref. 12).

Blood for transfusion in the United States (U.S.) is also tested for anti-HBc. Anti-HBc develops a few days after the appearance of HBsAg and usually remains detectable for life, irrespective of whether the individual recovers from acute hepatitis B or whether chronic HBV infection develops. Because of the availability and use of tests to detect anti-HBc, HBV NAT's potential utility in further reducing risk of hepatitis B transmission by blood transfusion is mainly restricted to the early HBsAg-negative phase of infection (i.e., a potential reduction of the infectious window period of up to 40 days depending on sensitivity of the HBsAg test).

There are currently three FDA-licensed HBV NAT assays for screening Whole Blood and blood components available in the U.S. Following licensure of the first HBV NAT assay in April 2005 (the Roche COBAS AmpliScreen HBV NAT that uses pools of up to 24 donation samples), FDA did not recommend use of HBV NAT. At that time, FDA's position on the use of HBV NAT was based, in part, upon discussions by the Blood Products Advisory Committee (BPAC or Committee) at the meeting on July 23, 2004 (Ref. 13), and on a recommendation from the Department of Health and Human Services Secretary's Advisory Committee on Blood Safety and Availability (ACBSA) on August 27, 2004 (Ref. 14). In making its recommendations, the ACBSA considered a number of broad public health issues including cost-effectiveness, feasibility, and overall public