

平成 31 年度～令和 2 年度厚生労働科学研究費補助金  
(医薬品・医薬機器等レギュラトリーサイエンス政策研究事業)  
総合分担研究報告 (7)

海外の原料血漿採取方法の安全性に関する研究

研究分担者 国立感染症研究所 血液・安全性研究部 野島 清子

研究要旨

血漿分画製剤の世界的な需要の増加に伴い、必要とされる分画用原料血漿量も増加している。我が国では、「安全な血液製剤の安定供給の確保等に関する法律(昭和 31 年法律第 160 号(以下血液法))」で定めた血液製剤の安全性の向上・安定供給の確保を図るための基本的な方針(基本方針)に従い、厚生労働大臣が毎年血液製剤の安定供給に関する需給計画を定め、原料血漿を製造販売業者への配分している。

近年グロブリン製剤の適応が拡大して世界的に需要が増す中でいかに原料血漿を確保するか、新興・再興感染症の流行によりドナーの疫学背景が変化する中で、いかに安全性を評価して担保するかは重要な課題となっているところである。令和 2 年には血液法および血液法施行規則の一部が改正により、原料血漿の製造業者の血液法における位置づけが明確化され、採血事業所の新規申請に係る基盤が整備されたところである。

一方、血漿分画製剤の原料として、我が国でどのような感染症マーカーをスクリーニングする必要があるかは生物由来原料基準に明記されているが、本研究班の調査により、外資系メーカーの欧米の採漿センターにおいては、生物由来原料基準で求められている項目よりも多くの試験項目がスクリーニングされ、採血事業者/採漿センターの自社規格により安全性が担保されている現実が見えてきた。本研究班で実施した外資系血漿分画製剤メーカー 3 社の欧米の採漿センターへのアンケート調査により、特にヒトパルボウイルス B19 DNA のミニプール NAT および HAV RNA のミニプール NAT を全ての原料血漿に対して実施していること、また、輸血用の採血は実施しておらず分画用の血液に特化して採漿していることが分かった。血液法の一部改正により日本赤十字社以外の採血事業者の新規申請が可能となったことを受け、本研究では、生物由来原料基準の見直しの必要性の検討、またはスクリーニング項目に関する指針等の作成の必要性の検討を提案し、我が国の血漿分画製剤の安定供給と安全性向上の方策に貢献したいと考える。

A. 研究目的

血漿分画製剤の世界的な需要の増加に伴い、必要とされる分画用原料血漿量も増加している。我が国では、「安全な血液製剤の安定供給の確保等に関する法

律(昭和 31 年法律第 160 号(以下血液法))」で定めた血液製剤の安全性の向上・安定供給の確保を図るための基本的な方針(基本方針)に従い、厚生労働大臣が毎年血液製剤の安定供給に関する需

給計画を定め、原料血漿を製造販売業者への配分している。

近年グロブリン製剤の適応が拡大して世界的に需要が増す中で、いかに原料血漿を確保するか、安全性を確保するかは重要な課題となっているところである。また、デングウイルス、ジカウイルス、新型コロナウイルス感染症などの流行が年々報告され、ドナーの疫学背景が変化している中で、血漿分画製剤の安全性についても継続的に議論され、国と採血事業者等の努力により安全性が担保されているところである。

平成 29 年度第 5 回薬事・食品衛生審議会薬事分科会血液事業部会運営委員会において、日本の血液事業における外資系製薬企業の展開方向について欧州製薬団体連合会(EFPIA)のヒアリングが行われ、日本赤十字社につぐ第二採血事業者の可能性が議論された。その後血液法の整備が進み、令和 2 年 9 月に血液法および血液法施行規則の一部が改正され原料血漿の製造業者の血液法における位置づけが明確化され、採血事業所の新規申請に係る基盤が整備されたところである。

血漿分画製剤は生物学的製剤基準(平成 16 年 3 月 30 日 厚生労働省告示 第 155 号、最終改正：令和 3 年 2 月 14 日 厚生労働省告示 第 42 号)の医薬品各条に収載され、原料に対してどのような感染症マーカーをスクリーニングする必要があるかについては、生物由来原料基準(平成 15 年厚生労働省告示第 210 号、最終改正：平成 26 年 9 月 26 日 厚生労働省告示 第 375 号)に明記されている。生物由来原料基準には、輸血用と血漿分画用の血漿に対して異なる検査項目が定められているが、日本では現在日本赤十字社が、採血、検査、製造、配布を行う唯一の採血事業者であり、輸血用と分画用

血漿の両方に対して同じ検査を実施しており、輸血用血液製剤と同じグレードで検査がなされ高いレベルで安全性が確保されている。

一方、欧米では輸血用と血漿分画用の血漿は別の採血事業者が取り扱うことが多く血液採漿センターが実際にどのような感染症マーカーの検査を実施しているかは明らかではない(一部はインタビューフォームから確認可能)。

そこで本研究では、各国の状況を把握するために、生物由来原料基準、ヨーロッパ薬局方、アメリカ連邦規則集等に記載されている血漿分画用のドナースクリーニングに関する内容を整理した。また、外資系の分画メーカー 3 社の状況を調査し各社が安全対策の一環として分画用原料血漿にどのような感染症マーカーのスクリーニングを実施しているのかを整理し、日本の現状と比較し、日本で今後新たな採血事業者/採漿センターが設立された場合に、現行の生物由来原料基準で実施を求めている感染症マーカーの試験実施で充分かどうか考察した。さらに、上載せで試験を実施した場合、または不要である試験を実施しない場合の費用についても考察した。本研究の成果は、我が国の血漿分画製剤の安定供給と安全性向上に貢献できると考えられる。

## B. 方法

### 1. 各国の基準書等の文書確認

生物由来原料基準(第 2 血液製剤総則、2 血漿分画製剤総則)、ヨーロッパ薬局方(European Pharmacopeia)、アメリカ連邦規則集 CFR(Code of Federal Regulations、Title 21, Chapter I, Part610)、アメリカ薬局方(U.S. Pharmacopeia)、FDA NAT ガイドライン

(NAT to reduce the possible risk of Human Parvovirus B19 Transmission by plasma-derived products, Guidance for Industry、PPTA (Plasma Protein Therapeutics Association) ガイドライン(QSEAL NAT Testing Standard version 2.0)、欧州医薬品庁ガイドライン (Guideline on the scientific data requirements for a plasma master file (PMF) revision1)、欧州 EDQM 2019 Annual Report 等の文書を確認した。また、分画メーカーが血漿受入時に実施している核酸増幅検査や最終製品に対して実施している核酸増幅検査に関する情報は、インタビューフォームで確認した。日本で今後新たな採血事業者/採漿センターが設立された場合に、現行の生物由来原料基準で実施を求めている感染症マーカーの試験実施で充分かどうか考察した。

## 2. アンケート調査

血漿分画製剤用の血漿を採漿している次の施設に対してアンケート調査を実施した。武田薬品工業(米国およびオーストリア BioLife Plasma Service)、CSL ベーリング (CSL Plasma Inc., CSL Plasma GmbH, German、Red Cross)、グリフォルス (米国 Grifols Therapeutics LLC)、South Texas blood & Tissue Center。アンケート調査の結果についてまとめ、日本で今後新たな採血事業者/採漿センターが設立された場合に、現行の生物由来原料基準で実施を求めている感染症マーカーの試験実施で充分かどうか考察した。

スクリーニングキットの費用はメーカーホームページ上で公開されていないため、ロシュとアボット社に核酸増幅検査および血清学的検査の定価とキット当た

りの測定人数についてアンケート調査を実施した。

## C. 結果

### 1. 原料血漿に関連した文書管理の欧米との違いについて

日本で採血された血漿から血漿分画製剤を製造する場合、その原料は医薬品等原薬として原薬等登録原簿(MF)に「分画用プラズマ用(218MF10700)」として登録されている。一般的に MF には製造方法、規格および試験、原薬を用いて製造する製剤一覧などの記載項目が含まれるが、その内容は公開されていない。生物学的製剤基準に「人全血液」「新鮮凍結人血漿」等の記載があり輸血用血液製剤として満たすべき規格の記載があるが、分画用血漿については定められておらず、日本薬局方も同様であった。生物由来原料基準の第2血液製剤総則において、血漿分画製剤の原料等の保存温度(10℃以下)、原血漿の保存温度(6℃以下)の記載があるが、実際には日本赤十字社の内部規格で定められ、管理されているものと考えられた。

一方、欧州において原料血漿は「Human Plasma for fractionation」(01/2020:0853)として薬局方に収載され、図1の通り、採血から凍結までの時間と保管温度、感染症マーカーの検査項目、製法、その他満たすべき総たん白量(10単位以上のプールで試験を実施し5g/L以上)、凝固活性(10単位以上のプールで試験実施し、0.7IU/mL以上)等の規格に関する記載があるため、どのような原料からどう製造され、どんな規格を満たしているのかが局方で確認可能であった。

### 2. 感染症スクリーニング項目について

## の文書管理

日本で市販する血漿分画製剤の原料/原血漿は、たとえ輸入製剤であっても生物由来原料基準を満たす必要がある。生物由来原料基準の第2血液製剤総則2血漿分画製剤総則では、原材料に対してHBV、HCV、HIV-1/2の血清学的検査、原血漿に対してHBV、HCV、HIVの核酸増幅検査を実施し、いずれも「検出されない」ことが求められている。

日本では日本赤十字社が唯一の採血事業者であり、分画用の血液に対して表2の通りの試験項目を実施しており、輸血用と同じ試験項目が実施され高いレベルで安全性が確保されている。一方、スペイン、サウステキサスの事例では、表1にあるように、一つの施設で輸血用と分画用の採血を実施しており、それぞれ実施しているスクリーニング項目が異なっていることがわかった。特にスペインの例では、分画用のドナーに対してHCV、HIV、HBVのNAT試験を実施していないが、これは図1欧州薬局方 Human Plasma for fractionation の黒枠箇所からもわかるように、欧州薬局方では分画に用いる血漿に対してNATの実施を求めていることと一致する。ただし、欧州薬局方では、図1の2つ目の黒枠Bにあるように、製造工程で血漿プールを構成した時点でのHCV RNAのNATの実施が求められ安全性が担保され、さらに血漿プールに対する核酸増幅検査実施時の陽性コントロールの設定、インターナルコントロールの設定などについても明記されているのが特徴的であった。

また、欧州では、Official Medicines Control Laboratory (OMCL) がプール血漿の抗体試験等を国家検定として実施し、血漿プールのバッチリリースを実施しており、欧州EDQM 2019 Annual Reportに

よると、2019年のプール血漿のバッチリリースの数は13600バッチにも及び、Plasma master File (PMF)として国が関与して管理していることがわかった。PMFに関連して、ドナーの疫学背景、試験法の変更、採血地の変更、陽性数などを年次レポートとして国に提出して管理されていた。このシステムは、採血事業者が複数ある場合、採漿センターごとに試験法が異なる場合などには有用な方法と考えられた。

### 3. 分画用の感染症スクリーニング項目について

表3に分画用の血漿に対するスクリーニング実施状況をまとめた。そのうち、日本に輸入されている製造販売業者から情報提供を受けたものを点線で囲い、その採血/採漿センターが分画用のみ採取している場合はその施設名に\*を付与した。表3より日本に輸入される製剤の原料血漿のスクリーニングに関して共通して4つのことが確認できた。

1. 血清学的検査の個別検体数は1で実施され（表中ではIDと表示:individual）、生物由来原料基準に適合している。
2. 核酸増幅検査はミニプールで実施され、生物由来原料基準に適合している。
3. ヒトパルボウイルスB19とHAVの核酸検査をミニプールで実施しており、これらは生物由来原料基準では求められていない。
4. HIVの抗原に対する血清学的試験を実施している。

1.と2.は生物由来原料基準で求めている項目、3.については求めている項目、4.と3.のHAV NATは、日本赤十字社が実

施していない項目（生物由来原料基準で求めている HIV の血清学的検査は、抗体と抗原の区別はしていない）であった。

3. に関連して、B19 の核酸増幅検査の実施は表 2 から分かるように海外では PPTA と FDA のガイドラインで求められており、また HAV の核酸増幅検査は PPTA のガイドラインで求められている。よって、日本の生物由来原料基準で求められていなくても、採血地/国の規格に適合させるためにメーカーの判断で実施されているものと考えられた。

#### 4. 海外および日本における B19 スクリーニングについて

PPTA の QSEAL NAT Testing Standard version 2.0 は行政レギュレーションに上乘せするガイドラインであり、HBV, HCV, HIV, HAV 陽性の血漿を使用してはいけないこと、血漿プールの B19 DNA は  $10^4$  IU/mL を超えてはいけない旨が記載されていた。FDA が発出したガイドライン「NAT to reduce the possible risk of Human Parvovirus B19 Transmission by plasma-derived products, Guidance for Industry」にも、同様に血漿プールの B19 DNA は  $10^4$  IU/mL を超えてはいけない旨が記載されている。血漿プールでの規格値をもうけ、高値のドナーを原料から除く理由が本ガイドラインに 4 つ示されていた。

1. 無症候でも血中ウイルス量が高いことがある ( $10^{12}$  IU/mL)。
2. B19 は血漿分画製剤の製造工程で導入されているウイルス除去・不活性化工程に抵抗性を示すため、一旦混入すると除くことが困難である。
3.  $10^4$  IU/mL の規格値は S/D プラズマ投与による感染事例を根拠に定められている。
4. B19 ウイルス量の低いドナーを原料血

漿から除いてしまうと有効な中和抗体も除かれてしまう。

日本では、CLEIA 法で B19 の血清学的検査をドナー毎に個別で実施しており、日本赤十字社の報告によると (Satake S. *et. al*, Transfusion 53:2556, 2013) その感度は、 $6.4 \log$  IU/mL であり、CLEIA 陽性ドナー 417 人のうち 101 人が B19-DNA 陽性であり、CLEIA 法でのスクリーニング開始後に製造された 772 バッチの血漿プールの B19 DNA 量はいずれも  $10^4$  IU/mL を下回っており、日本赤十字社が実施している血清学的検査は、PPTA や FDA が原料血漿に対して求める B19 NAT の規格をクリアできていることが示されていた。

さらに、国内献血血液から製造される 3 社の血漿分画製剤のインタビューフォームを確認したところ、1 社が受入試験で、全社が最終製品で B19 の核酸増幅試験を実施していることがわかった。

行政文書ではなく、日本赤十字社やメーカーの自社規格により安全性が担保されている現状を考慮すると、日本赤十字社以外の第二採血事業者が登録される場合、現行と同じレベルの原料血漿の安全性を担保するには、B19 の血清学的検査もしくは核酸増幅検査の実施を求める必要があると考えられた。

また、 $10^{12}$  IU/mL 相当の高いウイルス量のドナー血液が 1bag でも入ると、仮に 10,000 人の血漿がプールされたとしてもプールのウイルス量は  $10^8$  IU/mL と高値であり、工程中のウイルス除去不活化で除去するのは困難と思われ、何らかの対応、つまり生物由来原料基準の見直しの必要性の検討、指針やガイドラインの必要性の検討が今後必須になると考えられる。

#### 5. 海外および日本における HAV スクリーニングについて

日本の HAV 感染者は欧米より少なく、これは国内血から製造されたグロブリン中の抗 HAV 力価が輸入製剤よりも低いことから分かる。PPTA のガイドラインに HAV 陽性の血漿を使用してはいけない旨の記載があるが、AABB の Fact sheet によると、HAV の血中ウイルス量は  $10^3 \sim 5$  IU/mL と低いこと、日本は感染者が少ないことを考慮すると、HAV が原料血漿に混入した場合でも製造工程中のウイルス・除去不活化工程で十分に除ける可能性が高い。

よって、表 3 の通り輸入製剤の原料血漿はすべて HAV-RNA の核酸増幅検査が実施されているところであるが、日本においては分画用の原料に対して HAV のスクリーニングを新たに求める必要は低いと考えられた。

国内献血血液から製造される 3 社の血漿分画製剤のインタビューフォームを確認したところ、B19 と同様に 1 社が受入試験で、全社が最終製品で HAV の核酸増幅試験を実施していることがわかり、分画メーカーの自社規格により安全性が上乘せされていると考えられた。

## 6. その他のスクリーニング項目について

日本では分画用の原料に対して HTLV-1 抗体のスクリーニングが実施されているところであるが、日本に輸入される血漿分画製剤の原料(表 2 点線枠内)では実施されていなかった。梅毒(syphilis)は一部米国の採漿センターでは規格に従い実施されていた。梅毒のスクリーニングについてはリスクが評価され継続の必要性が議論されていた(Thisuri Jayawardena *et al.* Vox Sanguinis, 2019, 114, 1107)

## 7. 価格について

スクリーニングキットの費用は公開さ

れていないため、ロシュとアボット社に核酸増幅検査および血清学的検査の定価と 1 キット当たりの測定人数についてアンケート調査を実施した。

輸入製剤ですべて実施している HAV と B19 の核酸増幅検査を仮に追加する場合は、定価ベースで 96 検体当たり 37 万 8 千円が上乘せ(同時検出、日本未発売)となると想定された。また、仮に生物由来原料基準で求められていない、HTLV-1 抗体、梅毒抗体、HBc 抗体のスクリーニングを実施しない場合、それぞれ定価ベースで 100 検体当たり、9 万円、3 万円、6 万 4 千円の費用削減が可能と推定された。

## D. 考察

血液法の一部改正により日本赤十字社以外の採血事業者の新規申請が可能となったことを受け、本研究では、生物由来原料基準の見直しの必要性の検討、またはスクリーニング項目に関する指針等の作成の必要性の検討を提案し、我が国の血漿分画製剤の安定供給と安全性向上の方策に貢献したいと考える。

生物由来原料基準記載の感染症マーカーのみで十分かどうかは、ドナーの疫学背景に依存しており、承認時には充分であった安全性対策も新たな感染症が起きた場合は、無症候ウイルス血漿の有無や血漿ウイルス量情報など、最新の知見を得た上で安全性を上乘せする必要があるか国との連携により議論されている。採血事業者が複数あった場合も同様な議論が必要となるであろう。

輸入製剤の原料を採取する海外の採血センターが検査項目を変更し、それが承認販売申請書の記載に影響しない場合、日本ではそれを漏れなく確認することが難しい可能性がある。一つの国に複数の採血事業者

が存在する海外のPMFのシステム化が今後参考になると考えられる。

また、国立感染症研究所が実施している血漿分画製剤の国家検定による試験に上乘せして、製造・試験記録等要約書（SLP）を確認する新しいロットリリースが予定されており、SLPの中に採血センターが実施している試験法が変更になった場合は特記事項に記載されるようになる予定である。

また、今回の研究班において、分画用プラズマにおける、第Ⅷ因子用、その他分画用、抗HBs用の規格の違いが記載された文書を見つけることはできなかった（血液事業部会運営委員会資料には一部情報が記載されている）。第2採血所が血液法で認められたこの機会に、採血からの凍結までの時間、保管温度、期間、抗HBs抗体価の原料としての規格値などの文書を整理する必要があるか検討する場合、欧州薬局方が参考になると考えられた。

ヒトパルボウイルスは生物由来原料基準では分画用原料に対してスクリーニングが求められていないが、B19は血中ウイルス量が非常に高く $10^{12}$  IU/mL相当のドナー血液が原料に混入した場合、工程中のウイルス除去不活化で除去するのは困難と思われ、基準で求められていなくても分画メーカーは独自でスクリーニング実施せざるを得ないのが現状であることを考えると、自社規格による管理に頼るよりは規格として追記する必要があるか検討することを提案する。

## E. 結論

血液法の一部改正により日本赤十字社以

外の採血事業者の新規申請が可能となったことを受け、本研究では、生物由来原料基準の見直しの必要性の検討、またはスクリーニング項目に関する指針等の作成の必要性の検討を提案し、我が国の血漿分画製剤の安定供給と安全性向上の方策に貢献したいと考える。

## F. 健康危険情報

該当なし

## G. 研究発表

### 1) 論文発表

該当なし

### 2) 学会発表等（WEB）

Kiyoko Nojima : Updates in lot release system for blood products in Japan. The Fifth Meeting of National Control Laboratories for Biologicals in the Western Pacific, Global Bio Conference 2020, Seoul(Web, 口頭), September , 2020

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1) 特許取得

該当なし

### 2) 実用新案登録

該当なし

### 3) その他

該当なし

スクリーニング項目	Hospital Clinic de Barcelona スペイン				South Texas Blood & Tissue Center	
	輸血用		分画用		輸血用	分画用
	Voluntary	Mandatory	Voluntary	Mandatory		
HBs抗原		○		○	○	○
HBc抗体					○	
HBs抗体						
HBV-DNA	○				○	○
HCV抗体		○		○	○	○
HCV-RNA		○			○	○
HIV-1/2抗体		○		○	○	○
HIV-1/2 RNA		○			○	○
B19 antigen						
B19 NAT					○	○
Syphilis antibody		○		○		
T. cruzi抗体	○		○		○ <small>(only 1st time)</small>	
HTLV-1/2抗体	○		○		○ <small>(NAT)</small>	
Cytomegarovirus	○		○			○ <small>(selected cases)</small>
HEV-RNA	○					
WNV-RNA	○				○	
Zika RNA					○	
HAV RNA					○	○

表1. 輸血用と分画用でのスクリーニング実施項目の違い

	日本			ヨーロッパ			US			PPTA	
	スクリーニング項目	文書管理	対象	スクリーニング項目	文書管理	対象	スクリーニング項目	文書管理	対象	スクリーニング項目	対象
HBV	HBs抗原	生物由来原料基準	原材料	HBs抗原	Europe Pharmacopeia 10	Individual	HBV	U.S. Pharmacopeia Federal Regulation	Individual	HBV-NAT	Mini pool
	HBc抗体	Voluntary	-	HBc抗原	Europe Pharmacopeia 10	Pooled Plasma					
	HBV-DNA	生物由来原料基準	原血漿								
HCV	HCV抗体	生物由来原料基準	原材料	HCV抗体	Europe Pharmacopeia 10	Individual	HCV	U.S. Pharmacopeia Federal Regulation	Individual	HCV-NAT	Mini pool
	HCV-RNA	生物由来原料基準	原血漿	HCV-RNA(*1)	Europe Pharmacopeia 10	Pooled Plasma					
HIV	HIV-1/2抗体	生物由来原料基準	原材料	HIV-1/2抗体	Europe Pharmacopeia 10	Individual	HIV-1/2	U.S. Pharmacopeia Federal Regulation	Individual	HIV-NAT	Mini pool
	HIV-1/2 RNA	生物由来原料基準	原血漿	HIV-1/2抗体	Europe Pharmacopeia 10	Pooled Plasma					
B19	B19 antigen	Voluntary	-	-	-	-	B19-NAT (Mini pool)	FDA NAT guidance (<10 <sup>4</sup> U/mL)	Mini pool	B19-NAT (<10 <sup>4</sup> U/mL)	Mini pool
Syphilis	Syphilis	Voluntary	-	-	-	-	Syphilis	U.S. Pharmacopeia Federal Regulation	Individual	-	
T.cruzi	T. cruzi抗体	Voluntary	-	-	-	-	-	-	-	-	
HTLV-1	HTLV-1/2抗体	Voluntary	-	-	-	-	-	-	-	-	
HEV	HEV-RNA	Voluntary	-	-	-	-	-	-	-	-	
HAV	-	-	-	-	-	-	-	-	-	HAV-NAT	Mini pool

(\*1) 100U/mLを陽性コントロールにおき、陽性コントロールが陽性、インターナルコントロールが陰性、HCV-RNA陽性の時に陰性とする

表2. 分画用血漿に対する各国の感染症スクリーニング項目の必修状況



スクリーニング項目	スペイン		South Texas Blood & Tissue Center	Takeda BioLife Plasma Service (USA)		Takeda BioLife Plasma Service (Vienna)		CSL Plasma Inc. USA		CSL Plasma GmbH Germany		CSL ドイツ赤十字		Grifols Therapeutics LLC, USA	
	Voluntary	Mandatory		Voluntary	Mandatory	Voluntary	Mandatory	Voluntary	Mandatory	Voluntary	Mandatory	Voluntary	Mandatory	Voluntary	Mandatory
HBs抗原		○	○		○(ID)		○(ID)		○(ID)		○(ID)		○(ID)		○(ID)
HBc抗体															
HBs抗体															
HBV-DNA			○		○(96MP)		○(96MP)		○(96MP)		○(96MP)		○(96MP)		○(96MP)
HCV抗体		○	○		○(ID)		○(ID)		○(ID)		○(ID)		○(ID)		○(ID)
HCV-RNA			○		○(96MP)		○(96MP)		○(96MP)		○(96MP)		○(96MP)		○(96MP)
HIV-1 p24 Ag				○(ID)		○(ID)		○HIV-1 (ID) (Ab/Ag combo)		○HIV-1 (ID)		○(ID)			○(ID)
HIV-1/2抗体		○	○		○(ID)		○(ID)		○HIV-1 (ID) (Ab/Ag combo) ○HIV-1/2 (ID)		○(ID)		○(ID)		○(ID)
HIV-1*/2 RNA			○		○(96MP)		○(96MP)		○(96MP)		○(96MP)		○(96MP)		○(MP)
B19 antigen					○(96MP)		○(96MP)		○(96MP)		○(96MP)		○(96MP)		○(96MP)
B19 NAT			○		○(96MP)		○(96MP)		○(96MP)		○(96MP)		○(96MP)		○(96MP)
Syphilis antibody		○							○						○(ID)
T. cruzi抗体	○														
HTLV-1/2抗体	○														
Cytomegarovirus	○		○ (selected cases)												
HEV-RNA												○			
WNV-RNA								○							
ALT															○
HAV RNA			○		○(96MP)		○(96MP)		○(96MP)		○(96MP)		○(96MP)		○(96MP)

表3. 欧米で分画用血漿に対して実施されているスクリーニング項目

\* 分画用採漿のみ

**HUMAN PLASMA FOR FRACTIONATION**  
 Plasma humanum ad separationem

**DEFINITION**  
 Liquid part of human blood remaining after separation of the cellular elements from blood collected in a receptacle containing an anticoagulant, or separated by continuous filtration or centrifugation of anticoagulated blood in an apheresis procedure; it is intended for the manufacture of plasma-derived products.

**PRODUCTION**  
**DONORS**  
 Only a carefully selected, healthy donor who, as far as can be ascertained after medical examination, laboratory blood tests and a study of the donor's medical history, is free from detectable agents of infection transmissible by plasma-derived products may be used. Recommendations in this field are made by the Council of Europe [Recommendation No. R (95) 15 on the preparation, use and quality assurance of blood components or subsequent revision]; a directive of the European Union also deals with the matter: Commission Directive 2004/53/EC of 22 March 2004 implementing

**Immunisation of donors.** Immunisation of donors to obtain immunoglobulins with specific activities may be carried out when sufficient supplies of material of suitable quality cannot be obtained from naturally immunised donors. Recommendations for such immunisations are formulated by the World Health Organisation (Requirements for the collection, processing and quality control of blood, blood components and plasma derivatives, WHO Technical Report Series, No. 840, 1994 or subsequent revision).

**Records.** Records of donors and donations made are kept in such a way that, while maintaining the required degree of confidentiality concerning the donor's identity, the origin of each donation in a plasma pool and the results of the corresponding acceptance procedures and laboratory tests can be traced.

**Laboratory tests.** Laboratory tests are carried out for each donation to detect the following viral markers:  
 1. antibodies against human immunodeficiency virus 1 (anti-HIV-1);  
 2. antibodies against human immunodeficiency virus 2 (anti-HIV-2);  
 3. hepatitis B surface antigen (HBsAg);  
 4. antibodies against hepatitis C virus (anti-HCV).

The test involves oral use of suitable serological assays and comply with the regulations in force. If a repeat retest result is found in any of these tests, the donation is not accepted.

**INDIVIDUAL PLASMA UNITS**  
 The plasma is prepared by a method that removes cells and cell debris as completely as possible. Whether prepared from whole blood or by plasmapheresis, the plasma is separated from the cells by a method designed to prevent the introduction of micro-organisms. No antibacterial or antifungal agent is added to the plasma. The containers comply with the requirements for glass containers (3.2.1) or for plastic containers for blood and blood components (3.1.4). The containers are closed so as to prevent any possibility of contamination.

If 2 or more units are pooled prior to freezing, the operations are carried out using sterile connecting devices or under aseptic conditions and using containers that have not previously been used.

When obtained by plasmapheresis or from whole blood (after separation from cellular elements), plasma intended for the recovery of proteins that are labile in plasma is frozen within 24 h of collection by cooling rapidly in conditions validated to ensure that a temperature of  $-25^{\circ}\text{C}$  or below is attained at the core of each plasma unit within 12 h of placing in the freezing apparatus.

When obtained by plasmapheresis, plasma intended solely for the recovery of proteins that are not labile in plasma is frozen by cooling rapidly in a chamber at  $-20^{\circ}\text{C}$  or below within 24 h of collection.

When obtained from whole blood, plasma intended solely for the recovery of proteins that are not labile in plasma is separated from cellular elements and frozen in a chamber at  $-20^{\circ}\text{C}$  or below within 72 h of collection.

It is not intended that the determination of total protein and human coagulation factor VIII should be carried out on each unit of plasma. They are either given as guidelines for good manufacturing practice, the test for human coagulation factor VIII being relevant for plasma intended for use in the preparation of concentrates of labile proteins.

The total protein content of a unit of plasma depends on the serum protein content of the donor and the degree of dilution inherent in the donation procedure. When plasma is obtained

from a suitable donor and using the intended proportion of anticoagulant solution, a total protein content complying with the limit of 50 g/L is obtained. If a volume of blood or plasma smaller than intended is collected into the anticoagulant solution, the resulting plasma is not necessarily unsuitable for pooling for fractionation. The aim of good manufacturing practice must be to achieve the prescribed limit for all normal donations.

**Preservation of human coagulation factor VIII in the donation** depends on the collection procedure and the subsequent handling of the blood and plasma. With good practice, 0.7 IU/mL can usually be achieved, but units of plasma with a lower activity may still be suitable for use in the production of coagulation factor concentrates. The aim of all steps taken during production of plasma is to obtain plasma of the intended quality and to conserve labile proteins as much as possible.

**Total protein.** Carry out the test using a pool of not fewer than 10 units. Dilute an appropriate volume of the preparation with a 9 g/L solution of sodium chloride R to obtain a solution containing about 15 mg of protein in 2 mL. To 2.0 mL of this solution in a round-bottomed centrifuge tube, add 2 mL of a 7% solution of sodium molybdate R and 2 mL of a mixture of 1 volume of nitrogen-free sulfuric acid R and 50 volumes of water R. Shake centrifuge for 5 min, decant the supernatant and allow the inverted tube to drain on filter paper. Determine the nitrogen in the residue by the method of sulfuric acid digestion (2.5.9) and calculate the protein content by multiplying the quantity of nitrogen by 6.25. The total protein content is not less than 50 g/L.

**Human coagulation factor VIII (2.7.4).** Carry out the test using a pool of not fewer than 10 units. Thaw the samples to be examined, if necessary, at  $37^{\circ}\text{C}$ . Carry out the assay using a reference plasma calibrated against the International Standard for human coagulation factor VIII in plasma. The activity is not less than 0.7 IU/mL.

**STORAGE AND TRANSPORT**  
 Frozen plasma is stored and transported in conditions designed to maintain the temperature at or below  $-20^{\circ}\text{C}$ ; for accidental reasons, the storage temperature may rise above  $-20^{\circ}\text{C}$  on one or more occasions during storage and transport but the plasma is nevertheless considered suitable for fractionation if all the following conditions are fulfilled:  
 - the total period of time during which the temperature exceeds  $-20^{\circ}\text{C}$  does not exceed 72 h;  
 - the temperature does not exceed  $-15^{\circ}\text{C}$  on more than 1 occasion;  
 - the temperature at no time exceeds  $-5^{\circ}\text{C}$ .

**POOLED PLASMA**  
 During the manufacture of plasma products, the first homogeneous pool of plasma (for example, after removal of cryoprecipitate) is tested for HBsAg and for HIV antibodies using test methods of suitable sensitivity and specificity; the pool must give negative results in these tests.

The plasma pool is also tested for hepatitis C virus RNA using a validated nucleic acid amplification technique (2.6.2f). A positive control with 100 IU/mL of hepatitis C virus RNA and, to test for inhibitors, an internal control prepared by addition of a suitable marker to a sample of the plasma pool are included in the test. The test is invalid if the positive control is non-reactive or if the result obtained with the internal control indicates the presence of inhibitors. The plasma pool complies with the test if it is found non-reactive for hepatitis C virus RNA.

Hepatitis C virus RNA for NAT testing BRP is suitable for use as a positive control.

**CHARACTERS**  
 Before freezing, clear or slightly turbid liquid without visible signs of haemolysis, it may vary in colour from light yellow to green.

図1. 欧州薬局方 各条, Human Plasma for fractionation