

血漿分画製剤のウイルスに対する安全性確保に関するガイドライン 改正案

目次

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
			1	1.1	1.2	1.3	1.4	1.5	1.6	2	2.1	2.2	2.3	2.4	3	3.1	3.2	3.3	4	4.1	4.2	4.3	4.4	4.4.1	4.4.2	4.4.3	5	6	6.1	6.2	6.3	7	8	
			序論	目的	対象	感染性因子	安全性確保の基本	検査の限界	ウイルスクリアランス試験の役割	原料	分類	ドナー（献（供）血者）の適性と血液のスクリーニング検査	採血後情報及び輸血後情報システム	検体保管	製造及び検査	工程前検査	中間血漿分画物（中間原料）の工程前検査	製造工程でのウイルス検査	ウイルスクリアランス試験	ウイルスクリアランス試験の目的	ウイルスの選択	ウイルスクリアランス試験の設計	ウイルスクリアランス能の評価	ウイルスクリアランス指数の評価	ウイルスクリアランス指数の計算法	データの解釈上留意すべき事項	ウイルスクリアランスの再評価が必要な場合	ウイルスクリアランス試験に用いる測定法	ウイルス感染価の測定法	核酸増幅検査（NAT）	統計	記録と保存	その他	

## 36 1 序論

### 37 1.1 目的

38 本ガイドラインは、血漿分画製剤のウイルスに対する現時点での総合的な安全確保対策  
39 についての原則的な考え方を示すものである。具体的には、血漿分画製剤の製造工程でのウ  
40 イルス除去及び不活化能（以下「ウイルスクリアランス能」という。）を評価するために実  
41 施するウイルスクリアランス試験に関して、使用するウイルスの種類、試験の立案、実施、  
42 データの解釈、製品の安全性の指標について提示するものであり、また、混入するリスクの  
43 あるウイルスに係る試験のタイミング及び試験法についての考え方を示すものである。本  
44 ガイドラインは、血漿分画製剤の製造上の一連のウイルス安全対策を全て網羅している。し  
45 たがって、本ガイドラインに沿った、献（供）血者の選択、個別血液のウイルス検査、プ  
46 ール血漿のウイルス検査、製造工程でのウイルス除去及び不活化処理、製造工程でのウイルス  
47 検査、並びに採血後情報及び輸血後情報等の遡及調査を適切に行うことにより、血漿分画製  
48 剤の安全性の向上を図ることが可能である。

49

### 50 1.2 対象

51 本ガイドラインは国内で使用される全ての原血漿、中間原料、及び製品に適用し、安全性  
52 確保対策の対象とするウイルスは、「生物由来原料基準」（平成 15 年厚生労働省告示第 210  
53 号）の「第 2 血液製剤総則」の「2 血漿分画製剤総則」において検査対象とされている  
54 B 型肝炎ウイルス（HBV）、C 型肝炎ウイルス（HCV）及びヒト免疫不全ウイルス（HIV）  
55 に加え、健康被害をもたらす可能性が指摘され血液に混入リスクのあるその他のウイルス  
56 も含むものとする。

57

### 58 1.3 感染性因子

59 血漿分画製剤はヒトの血液を原料として製造されることから、血液を介して伝播するウ  
60 イルスに対する十分な対策を講じなければならない。現在、HBV、HCV 及び HIV 等に係  
61 る高い感度のスクリーニング検査や製造工程でのウイルス除去及び不活化処理が実施され  
62 ており、血漿分画製剤の安全性は格段に向上している。一方、血液を介したウイルス感染の  
63 歴史的経過を顧みると、ウイルス肝炎についての報告や 1980 年代の血漿分画製剤による  
64 HIV や HCV 感染があったことに加え、その後も国内外で複数の新興・再興感染症の発症が  
65 報告されている。血漿分画製剤の安全性確保の上で問題になりうる主なウイルスとして、B  
66 型肝炎ウイルス（HBV）、C 型肝炎ウイルス（HCV）、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）のほ  
67 か、A 型肝炎ウイルス（HAV）、E 型肝炎ウイルス（HEV）、ヒト T 細胞白血病ウイルス  
68 （HTLV-1）、ヒトパルボウイルス B19 などが挙げられる。さらに血漿分画製剤は、多くの  
69 ヒトの血漿をプールして製造されるため、検査対象とされていないウイルスや未知のウイ  
70 ルスなどが潜在している可能性があり、安全対策を徹底して実施する必要がある。例えば、  
71 新興感染症として新たなウイルスが出現した場合、原料となる血液に混入するリスクが否

72 定できない場合はウイルス検査の必要性について検討するとともに、製造工程での十分な  
73 ウイルスクリアランスが得られるか評価する必要がある。さらに、原血漿以外の材料、例え  
74 ば、動物由来の酵素やモノクローナル抗体を用いて製造する場合における動物由来のウイ  
75 ルス汚染の可能性や製造環境からのウイルス汚染の可能性も推定されることから、注意深  
76 く安全対策を講ずることが必要である。

77

#### 78 1.4 安全性確保の基本

79 血漿分画製剤のウイルスに対する安全対策は、次に示す複数の方法を適切かつ相補的に  
80 行うことにより達成される。

- 81 (1) 献（供）血者の問診を行う。
- 82 (2) 献（供）血血液、ミニプール血漿又はプール血漿のウイルス検査を行う。
- 83 (3) 製造工程でウイルス除去及び不活化処理を実施する。
- 84 (4) 必要に応じて、製造工程でのウイルス検査を実施する。
- 85 (5) 原血漿に関する最新の感染症情報を採血事業者等より入手するよう努める。
- 86 (6) 採血後情報及び輸血後情報について遡及調査を行う。
- 87 (7) 製品との関連が疑われる感染症の情報を集める。

88

#### 89 1.5 検査の限界

90 ウイルスの検査方法は技術の進歩とともに向上するため、検査の実施に当たっては常に  
91 科学的に最高水準の検査技術を取り入れるとともに適切に検査を行わなければならない。  
92 いかなる検査にも検出限界が存在するため、ウイルス検査の結果が陰性であっても、ウイル  
93 スの存在を完全に否定できないこともある。また、血液中には検査対象とされていないウイ  
94 ルスや未知のウイルスの存在も考えられる。したがって、現在採用している検査技術には検  
95 出限界のあることを認識し、プールした血漿を原料として製造される血漿分画製剤は、ウイ  
96 ルスが潜在する可能性を常に有することを前提とした上で安全対策を講ずる必要がある。

97

#### 98 1.6 ウイルスクリアランス試験の役割

99 原料の血液には常にウイルスが潜在する可能性があることを前提にすると、製造工程に  
100 おいていかに既知及び未知のウイルスを除去又は不活化できるかが安全対策上重要である。  
101 ウイルスクリアランス試験を実施する目的は、血漿分画製剤の製造工程に導入されている  
102 ウイルス除去技術及び不活化技術が、期待された効果をもたらしているか否かを実験的に  
103 検証することである。

104 ウイルスクリアランス試験においては、ウイルスの大きさ、形状、脂質膜（エンベロープ）  
105 の有無、核酸（ゲノム）の種類（DNA型、RNA型）、物理的・化学的処理に対する耐性など  
106 の特性を踏まえて適切なモデルウイルスを選択し、実験室規模での添加試験（スパイク試験）  
107 を実施することにより、既知のウイルスのみならず未知のウイルスに対するウイルスクリ

108 アランス能を検討、評価することが必要である。実際にウイルスクリアランス試験を実施す  
109 る際には、個々の製品ごとに製造方法を十分に考慮して適切にスケールダウンした評価系  
110 を採用する必要がある。また、原血漿への混入リスクのあるウイルスについてその感染評価  
111 系がある場合には、当該ウイルスそのものに対するウイルスクリアランス能を評価してお  
112 くことが望ましい。

113 このように、ウイルスクリアランス試験の役割は、製造工程におけるウイルス除去技術及  
114 び不活化技術の有効性と妥当性をスパイク試験により評価することにより、個々の血漿分  
115 画製剤の安全性に関する情報とその信頼性を確保することである。

116

## 117 2 原料

### 118 2.1 分類

119 わが国における血漿分画製剤の製造に用いられる原血漿としては以下のものがある。

#### 120 (1) 国内献血原血漿

121 国内の献血による原血漿には、全血採血より得られる血漿と成分採血より得られる  
122 血漿とがある。

#### 123 (2) 海外原血漿

124 外国で採漿された血漿である。

125

### 126 2.2 ドナー（献（供）血者）の適性と血液のスクリーニング検査

127 ドナーの適性については、「安全な血液製剤の安定供給の確保等に関する法律施行規則」  
128 （昭和 31 年厚生省令第 22 号）及び「採血の業務の管理及び構造設備に関する基準につい  
129 て」（平成 15 年 7 月 18 日薬食発第 0718005 号）に記載されている。血液のスクリーニ  
130 グ検査については、生物由来原料基準に記載されている。

131

### 132 2.3 採血後情報及び輸血後情報システム

133 採血事業者等と血漿分画製剤の製造販売業者との間に情報交換を可能とするシステムを  
134 確立し、採血後及び輸血後に原血漿の安全性に係る情報を得た場合は、関係者に速やかに情  
135 報を提供するとともに、適切に遡及調査を実施することが必要である。また、遡及調査機能  
136 を確保する上で、原血漿の貯留保管は重要な意義を持っている。

137 遡及調査については、「血液製剤の遡及調査について」（平成 17 年 3 月 10 日付け薬食発  
138 第 0310012 号厚生労働省医薬食品局長通知）も参考にすること。

139

### 140 2.4 検体保管

141 採血された血液の一部を適切な期間保存し、血漿分画製剤による感染症が疑われた場合  
142 に因果関係の解析に活用すること。

143

144 3 製造及び検査

145 血漿分画製剤を製造する際は、原血漿、その他の原料等及び製造環境に起因するウイルス  
146 等による汚染の可能性を極力低減させるため、適切な製造環境、条件及び技術を採用しなけ  
147 ればならない。

148 製造工程における原血漿以外からのウイルス汚染の可能性として以下のことが考えられ  
149 る。

150 (1) 製造従事者より汚染される。

151 (2) 製造施設環境より汚染される。

152 (3) 製造工程において用いる動物由来酵素やモノクローナル抗体等の原料等からウイルス  
153 が混入する。

154 近年の技術進歩はめざましく、有用なウイルスの検査技術、ウイルスの除去技術及び不活  
155 化技術については積極的に導入する必要がある。脂質膜を持つウイルスの除去・不活化につ  
156 いては、可能な限り頑健性の高い 2 つ以上の原理が異なるウイルスクリアランス工程を導  
157 入すること。脂質膜を持たないウイルスの除去・不活化については、頑健性の高いウイルス  
158 クリアランス工程を少なくとも 1 工程導入することが望ましい。また、製造工程にはウイ  
159 ルス安全性が確保された原料等を用いることにより、ウイルスの混入の可能性に対する安  
160 全性を高める必要がある。

161

162 3.1 工程前検査

163 工程前検査の対象となるのは、一人の供血者の血液から製造された血漿、少人数の血漿を  
164 プールしたミニプール血漿及びプール血漿である。一人の供血者の血液から製造された血  
165 漿ではその特異性や感度、精度が十分に評価された試験法を用いて HBV、HCV 及び HIV  
166 の血清学的検査を行うこと。ミニプール血漿及びプール血漿についても、その特異性、感度  
167 及び精度が十分に評価された核酸増幅検査 (Nucleic acid amplification test; NAT) を用い  
168 て HBV、HCV 及び HIV の遺伝子検査を実施する。必要に応じて HBV、HCV、HIV 以外  
169 のウイルスの試験の実施を考慮すること。既に採血時に個別 NAT 等による検査が行われて  
170 いる場合にはその結果をもって工程前検査が実施されたものとみなすことができる。

171

172 3.2 中間血漿分画物 (中間原料) の管理

173 血漿分画製剤を製造する際に使用する原料は必ずしも血漿とは限らず、中間原料製造業  
174 者において製造された血漿由来の中間原料を、製剤の製造業者が原料として使用し、精製工  
175 程を経て製品化することがある。例えば、クリオ沈殿物 (血液凝固第Ⅷ因子製剤原料)、コ  
176 ーンの低温エタノール分画工程から得られる PV (アルブミン製剤原料)、PⅡ + Ⅲ (免疫  
177 グロブリン製剤原料)、PⅡ (免疫グロブリン製剤原料)、そして PⅣ - 1 (アンチトロンビ  
178 ンⅢ製剤原料) などの中間原料が挙げられる。

179 これらの中間原料を原料とし、血漿分画製剤を製造する場合においても、製剤の製造業者

180 が原料の受け入れ試験として適切なウイルス検査を実施する必要がある。ただし、中間原料  
181 製造業者により、既に適切なウイルス検査が実施されており、その詳細を確認できる場合は  
182 その限りではない。

183 なお、当該中間原料については、中間原料製造業者により、既に適切な試験が行われてい  
184 る必要がある。また、中間原料の製造においてウイルスの除去及び不活性化工程がある場合に  
185 は、製剤の製造業者がそのデータを入手しウイルスクリアランス能などウイルスに対する  
186 安全性を説明できるようにしなければならない。

187

### 188 3.3 製造工程でのウイルス検査

189 出発原料に対する各種ウイルス検査の実施、製造工程におけるウイルス除去及び不活化  
190 を的確に実施するとともに、必要に応じて製造工程での適切なウイルス検査を行うこと。

191

## 192 4 ウイルスクリアランス試験

### 193 4.1 ウイルスクリアランス試験の目的

194 ウイルスクリアランス試験の目的は、原血漿に存在する可能性のある既知のウイルス及  
195 び未知のウイルスを、製造工程で効果的に除去及び不活化できることを検証又は推測する  
196 ことにある。

197 これは、原血漿又は工程途中の材料に意図的にウイルスを添加し、それぞれの製造工程の  
198 除去又は不活性化の効果を評価することにより達成される。この試験により、ウイルスの有効  
199 な除去工程又は不活性化工程が特定され、それぞれの工程のウイルスクリアランス能を加算  
200 することにより製造工程全体におけるウイルスクリアランス能の推定値が得られる。

201 ウイルスクリアランス試験の実施により、製剤のウイルスに関する安全性についての信  
202 頼性を高めることができる。しかし、この試験には多くの複雑な変動因子が関与しているた  
203 め、試験方法や得られたウイルスクリアランス能の評価の妥当性については個別に検討す  
204 る必要がある。

205

### 206 4.2 ウイルスの選択

207 広範なウイルスに対するクリアランス能を評価するためのウイルスクリアランス工程特  
208 性解析試験に使用される非特異的モデルウイルスは、広範囲なウイルスクリアランス能の  
209 情報を得るという観点から選択されるべきである。そのため、DNA ウイルス及び RNA ウ  
210 イルス、脂質膜の有無、粒子径の大小を考慮し、さらに物理的処理及び化学的処理に対する  
211 抵抗性が高いものを選択することが望ましい。これらの特性を網羅するには少なくとも 4 種  
212 類以上の非特異的モデルウイルスを組み合わせることが必要になる。

213 一方、原血漿に存在しているかあるいは存在が予測される特定のウイルスに対するウ  
214 イルスクリアランス工程評価試験では、関連ウイルスないしは関連ウイルスに類似した特性  
215 を持つ特異的モデルウイルスを用いた評価を実施することになる。原血漿に混在している

216 可能性のあるウイルスに類似している、あるいは同じ特性を持っているなどの理由で 2 種  
217 類のモデルウイルスを選択することが可能な場合には、原則としてウイルス除去及び不活  
218 化処理に対してより抵抗性の強いウイルスを選択すること。

219 血漿分画製剤のウイルスクリアランス試験に用いられるウイルスの例については別紙を  
220 参照すること。

221

#### 222 4.3 ウイルスクリアランス試験の設計

223 ウイルスクリアランス試験は、対象となる特定の製造工程段階で意図的にウイルスを添  
224 加し、当該製造工程のウイルスクリアランス能を定量的に評価するものである。したがって、  
225 当該製剤の全ての製造工程を検証する必要はなく、ウイルスの除去及び不活性化に寄与する  
226 製造工程だけについて実施すること。

227 ウイルスクリアランス能の評価においては、製造者がその製造工程を適切に反映した実  
228 験室規模で実施した結果に基づいて評価することを原則とする。いかなるウイルスも製造  
229 施設に故意に持ち込むことはできないため、ウイルスクリアランス試験は、製造設備とは別  
230 のウイルス試験設備で行わなければならない。このため、ウイルスクリアランス試験は、ウ  
231 イルス学的研究を行う設備のある隔離されたウイルス試験設備において、ウイルス学の専  
232 門家と生産技術者が共同で行う必要がある。この製造規模を縮小して行うウイルスクリア  
233 ランス試験は、実生産規模での製造工程との同等性が検証されていることが前提でなけれ  
234 ばならない。クロマトグラフについては、カラムベッド高、線流速、ベッド容量に対する流  
235 速の比率（すなわち接触時間）、緩衝液、カラム充填剤の種類、pH、温度、タンパク質濃度、  
236 塩濃度、製品濃度に関しても、全て実生産スケールの製造に対応している必要がある。また、  
237 溶出のプロフィールも同様のものが得られるように設計するべきである。同様な考え方を  
238 その他の工程についても適用することが必要である。しかし、やむを得ない事情により実際  
239 の製造工程を反映させることができない場合には、それが結果にどのような影響を及ぼすか  
240 を考察しておくべきである。

241 ウイルスクリアランス試験の計画を立案する際、検討することが望ましい留意点を以下  
242 に示す。

- 243 (1) 製造工程の設計にあたっては、ウイルスを除去又は不活化できる、機序の異なる 2 つ  
244 以上の工程を採用するよう検討することが望ましい。
- 245 (2) ウイルスを除去又は不活化することが予想される工程について、その能力を個々に評  
246 価し、それぞれが除去工程なのか、不活化工程なのか、あるいは除去及び不活化のいず  
247 れにも関与しているものかを明らかにできるような試験を計画すること。
- 248 (3) ウイルスクリアランス能に影響を及ぼす製造工程上の変動因子について検討すること。
- 249 (4) ウイルスに対する抗体が出発原料に存在する場合には、ウイルス除去工程及び不活化  
250 工程におけるウイルスの挙動に影響を及ぼす可能性があるため、ウイルスクリアラン  
251 ス試験ではこのことを考慮して実施する。また、原血漿の混合により抗体が特定のウイ

252 ルスの不活化に寄与することを評価する場合には、抗体の中和活性を適切に評価でき  
253 るアッセイ法を用いる必要がある。

254 (5) 試料中に添加するウイルス量は、その製造工程のウイルスクリアランス能を十分に評  
255 価できる量とする。ただし、一般的にウイルスの添加量は、ウイルス溶液量として出発  
256 原料の10%以下とすること。

257 (6) 試料中のウイルスは、可能な限り超遠心分離、透析、保存などの操作を行わずに定量  
258 することが望ましい。しかし、試験に対する阻害物質や使用する細胞に対する毒性物質  
259 を除去するため、又は全ての試料を同時に定量するため、定量前に何らかの処理をする  
260 ことが避けられない場合には、適切なコントロールを用いて、その処理の試験結果に対  
261 する影響を確認するとともに、試料による毒性発現などの検出系に対する影響も考慮  
262 すること。

263 (7) ウイルスの選択にあたっては、ウイルスクリアランス試験従事者に健康被害をもたら  
264 す可能性のあることに配慮すること。

265

#### 266 4.4 ウイルスクリアランス能の評価

##### 267 4.4.1 ウイルスクリアランス指数の評価

268 製造工程におけるウイルスクリアランス指数は、各製造段階での試験で得られたウイル  
269 スクリアランス指数の総和で評価する。製造販売業者は、得られたウイルスクリアランス指  
270 数が適切であるかどうかについて、原血漿及び製造過程に含まれる可能性のある全てのウ  
271 イルスを念頭において評価し、その妥当性を示すべきである。

272

##### 273 4.4.2 ウイルスクリアランス指数の計算法

274 ウイルス除去工程及び不活化工程のウイルスクリアランス指数  $R$  は、次式で示される。

275

$$276 R = \log \left( (V1 \times T1) / (V2 \times T2) \right)$$

277

278 なお、 $R$  は対数で表される減少度、 $V1$  は工程処理前の容量、 $T1$  は工程処理前のウイルス  
279 力価、 $V2$  は工程処理後の試料の容量、 $T2$  は工程処理後の試料のウイルス力価である。

280 ウイルスクリアランス指数を算出する場合には、可能な限り、添加したウイルス力価では  
281 なく、添加後の工程処理前の原料中に検出されるウイルスを検証しなければならない。

282 試験のばらつきは、希釈誤差、統計的な原因、各種測定法に特有な未知又は制御不能な要  
283 素の違いなどにより生じる。通常、独立して実施した試験間のばらつき（試験間変動）は、  
284 一試験内のばらつき（試験内変動）より大きい。

285 処理工程前の材料中のウイルス定量値の信頼限界が  $+S$  で、工程処理後のウイルス定量値  
286 の信頼限界が  $+a$  の場合、ウイルスクリアランス指数の信頼限界は  $\pm\sqrt{S^2+a^2}$  である。

287 上記の要因を総合的に評価することにより、当該工程のウイルスクリアランスの有効性



288 を適切に判断することができる。

289

#### 290 4.4.3 データの解釈上留意すべき事項

291 製造工程のウイルスクリアランスの有効性の評価には、下記の要因が寄与しているので、  
292 データを解釈する場合には個々の要因について注意深く検討する必要がある。

##### 293 (1) ウイルスの選択の妥当性

294 ウイルスクリアランス試験に使用するウイルスは、試験の目的に従って、適切な関連  
295 ウイルス及びモデルウイルスが選択されていたかを評価しなければならない。

##### 296 (2) ウイルスクリアランス試験の設計の妥当性

297 製造工程の変動要因や規模縮小における変動要因などを考慮に入れ、適切な試験系  
298 が設計されていたかを確認すること。

##### 299 (3) 製造工程の変動因子

300 製造工程の変動因子の僅かな変動に対しウイルスクリアランス能が影響を受けやす  
301 い場合は、当該製造工程のウイルスクリアランス能に対する影響を評価すること。

##### 302 (4) ウイルスクリアランス指数の評価

303 製造工程の総ウイルスクリアランス指数は、一般的に個々の工程でのウイルスクリ  
304 アランス指数の総和で示され、対数で表された各製造段階での減少度を加算すること  
305 によって算出される。しかし、複数の工程（例えば  $1\log_{10}$  以下の工程）の減少率を加  
306 算すると、工程全体を通してのウイルスクリアランス能を過大評価してしまう可能性  
307 がある。したがって、ウイルスクリアランス指数が  $1\log_{10}$  以下の除去及び不活化工程  
308 は、合理的な理由がない限り加算されるべきではない。また、同一の、又は類似した方  
309 法を繰り返して達成されたウイルスクリアランス指数は、合理的な理由がない限り加  
310 算されるべきではない。

##### 311 (5) 不活化の速度論の評価

312 ウイルス感染性の不活化は、しばしば急速な初期相とそれに続く遅い相からなる 2 相  
313 性の曲性を示す。したがって、試験に際しては、検体を時間を変えてサンプリングし、  
314 不活化曲線が描けるように計画すべきである。不活化試験においては、最短曝露時間  
315 のポイントに加えて、曝露ゼロ時より長く、かつ最短曝露時間よりも短い時間でのポ  
316 イントを少なくとも 1 点はとることが推奨される。このような工程で不活化を免れたウ  
317 イルスは、次の不活化工程でより強い抵抗力を示す可能性がある。例えば、抵抗性画分  
318 が凝集形態をとるとすれば、各種化学処理や熱処理に対しても抵抗力を示す可能性が  
319 ある。

##### 320 (6) 製造工程でのウイルスの挙動

321 ウイルスクリアランスは、例えば、不活化工程が 2 段階以上ある場合、相互補完的な  
322 除去工程が複数ある場合、あるいは除去工程及び不活化工程が複数組み合わせられてい  
323 る場合に効果的に達成される。除去工程においては、個々のウイルスがもつ特異的な物

324 理化学的特性がゲル・マトリクスとの相互作用や沈降特性にどの様に影響するのかに  
325 大きく依存しているために、モデルウイルスが目的ウイルスとは異なる機序により除  
326 去される可能性がある。したがって、除去に影響する製造工程のパラメータにはどのよ  
327 うなものがあるかを考慮する必要がある。例えば、糖鎖付加のような表面特性に変化が  
328 あれば、これに由来してパラメータに違いが生じる可能性がある。しかしながら、こう  
329 した変動要因にもかかわらず、相互補完的な除去工程の組み合わせや除去工程と不活  
330 化工程との組み合わせにより、効果的なウイルス除去が達成される。クロマトグラフィ  
331 ー工程、濾過工程及び抽出工程等において十分に吟味して設計された除去工程は、適切  
332 に管理された条件下で操作を行った場合、効果的なウイルス除去工程となり得る。

333 製造工程のウイルスクリアランス試験に使用されるウイルス標品は、通常、組織培養  
334 を用いて増幅製造される。製造工程において、組織培養由来ウイルスの挙動は自然界に  
335 存在するウイルスの挙動とは異なっている可能性がある。例えば、自然界に存在するウ  
336 イルスと培養ウイルスとでは純度や凝集などの性状が異なっている可能性があり、例  
337 えば、HEVは脂質に覆われている場合と覆われていない場合がある。したがって、細  
338 胞培養由来ウイルスを用いたウイルスクリアランス試験結果の評価に際してはこのよ  
339 うな臨床株との特性の違いに注意が必要である。

#### 340 (7) ウイルス力価の減少度の評価

341 ウイルス力価の減少度を対数で表してウイルスクリアランス指数とするため、残存  
342 感染性ウイルス量が著しく低減することは示すことができるが、力価は決してゼロに  
343 はならないという限界がある。例えば、mL 当たり  $8\log_{10}$  感染単位を含む標品から  
344  $8\log_{10}$  のファクターで感染性の低減があっても、試験の検出限界をも考慮すれば、mL  
345 当たり  $0\log_{10}$  すなわち 1 感染単位を残していることになる。

#### 346 (8) ウイルス力価測定法に対する毒性作用・干渉作用の評価

347 緩衝液や製品は、ウイルス力価試験に用いる指示細胞に好ましくない影響を及ぼす  
348 可能性がある。したがって、これらのウイルス力価測定法に対する毒性作用又は干渉作  
349 用をそれぞれ個別に評価して、測定に支障のないような対策を講ずるべきである。仮に  
350 緩衝液が指示細胞に対して毒性を有する場合は、十分な希釈、pH の調整、あるいはス  
351 パイクされたウイルスを含有する緩衝液の透析等を試みる。製品そのものが抗ウイル  
352 ス活性を持っている場合、ウイルスクリアランス試験を製品そのものは含まない類似  
353 工程 (mock run) で実施する必要がある。しかし、製造工程によっては、製品を除去  
354 すること又は抗ウイルス活性を持たない類似タンパク質で代替することがウイルスの  
355 挙動に影響することもあり得る。また、例えば、透析、保存など、測定試料調製の手順  
356 による影響を評価するために、同様な調製手順を経るコントロール試験も実施する必  
357 要がある。

358 一方、ウイルスクリアランス指数の総計は、製造条件、緩衝液などの毒性や殺ウイル  
359 ス性が非常に強い場合には過小評価される可能性があるため、事例ごとに評価される

360 べきである。逆にウイルスクリアランス指数の総計は、このようなウイルスクリアラン  
361 ス試験に固有の限界ないしは不適切な試験計画のために過大評価される場合もあるこ  
362 とに留意する必要がある。

#### 363 (9) ウイルスクリアランス能の選択性

364 あるウイルス除去工程又は不活化工程が一部のウイルスに対しては極めて有効であ  
365 るが、それ以外のウイルスに対しては有効ではない可能性がある。例えば、S/D (有  
366 機溶媒/界面活性剤) 処理は、一般に脂質膜を持つウイルスに対しては有効であるが、  
367 脂質膜を持たないウイルスに対しては有効ではない。

#### 368 (10) 抗体による影響

369 試料中に試験に用いるウイルスに対する抗体が存在すると、ウイルスの分配不活化  
370 処理に対する感受性に影響を与える可能性がある。ウイルスの感染性を中和するのみ  
371 でなく、試験系の設計を複雑にする。したがって、試料中のウイルスに対する抗体の存  
372 在は一つの重要な測定干渉要素であると考えられる。

#### 373 (11) アッセイ法の検出感度

374 ウイルスのアッセイ法は、ウイルスクリアランス指数の算定に大きく影響するので、  
375 可能な限り検出感度の高い方法を用い、事前にアッセイ法の検出感度を把握しておく  
376 必要がある。

#### 377 (12) ウイルスクリアランス試験の再現性及び信頼限界

378 ウイルス除去工程及び不活化工程として有効であることを示すためには、少なくと  
379 も 2 回以上の独立した試験により添加ウイルス量の低減に再現性があることを立証す  
380 る必要がある。

381

### 382 5 ウイルスクリアランス能の再評価が必要な場合

383 製造工程を変更する場合には、必ずその変更がウイルスクリアランス能に関して、直接的  
384 又は間接的に影響しないかを評価し、必要に応じてウイルスクリアランス試験を実施し、製  
385 造工程全体が適切なウイルスクリアランス指数を有することを再度検証する。なお、製造工  
386 程の変更によってウイルスクリアランス指数が変化する可能性があるため留意すること。

387

### 388 6 ウイルスクリアランス試験に用いる測定法

#### 389 6.1 ウイルス感染価の測定法

390 感染価の測定法には、プラーク測定法、細胞変性効果による検出法 (例えば TCID<sub>50</sub> 法)  
391 などがある。測定法は、十分な感度と再現性を持つべきであり、コントロールを用いて統計  
392 学的に分析可能な結果が得られるようにすること。

393

#### 394 6.2 核酸増幅検査 (NAT)

395 核酸増幅検査 (Nucleic acid amplification test; NAT) は、現行の血清学的検査が陰性で

396 ある時などにおいてもウイルスゲノムを高感度に検出できる方法である。また、ウインドウ  
397 期の大幅な短縮が可能となり、血漿分画製剤の原料となるプール血漿のウイルス感染リス  
398 クを大幅に低減し、血漿分画製剤のウイルスに対する安全性の向上に寄与するものと考え  
399 られる。

400 核酸増幅検査 (NAT) は、ウイルスクリアランス試験において、ウイルス除去工程の有効  
401 な評価法となりうる。しかしながら、ウイルス不活化工程では、不活化されたウイルスが依  
402 然としてウイルスゲノム陽性の結果を示すことがあるため、ウイルス不活化の程度が過小  
403 評価される可能性がある。また、NAT を導入する場合には、検出感度の妥当性、コントロ  
404 ールとして用いる標準品の選定、プライマー等、用いる試薬の品質の維持及び陽性又は陰性  
405 結果の評価において十分な注意を払わなければならない。

406 現在、NAT を利用した定量的な解析法が開発されてきており、ウイルス標準品の単位設  
407 定にも用いられている。定量的 NAT をウイルスクリアランス能の評価に用いる際には、ウ  
408 イルス粒子の除去などが適切に反映された試験法であることを確認し、試験の妥当性を説  
409 明する必要がある。NAT については、「血液製剤のウイルスに対する安全性確保を目的とし  
410 た核酸増幅検査(NAT)の実施に関するガイドラインについて」(平成 16 年 8 月 3 日付け薬  
411 食発第 0803002 号厚生労働省医薬食品局長通知) も参考にすること。

412

### 413 6.3 統計

414 ウイルスクリアランス工程特性解析試験におけるウイルス感染価やウイルスクリアラン  
415 ス指数等の算出には統計学的手法を用いる必要がある。ウイルスクリアランス工程評価試  
416 験については、必ずしも統計学的手法を用いた解析を求めるものではない。また、ウイル  
417 スクリアランス工程特性解析試験で得られたデータでウイルス安全性が十分説明可能な場合  
418 には、新たにウイルスクリアランス工程評価試験を実施する必要がない。また、得られた結  
419 論については、試験結果の妥当性を評価しなければならない。

420

### 421 7 記録と保存

422 ウイルスクリアランス試験に係る項目については全て文書化し、保存しなければならない。  
423 い。

424

### 425 8 その他

426 ウイルスクリアランス試験について ICH ガイドラインが適切に適用できる場合にはこれ  
427 を参考にする。

428

## 用語

429

430

431 非特異的モデルウイルス

432 製造工程がウイルス除去及び不活化に関して一般にどの程度の能力を有するかを解析す  
433 る目的、すなわち工程が確実にウイルスクリアランス能を発揮するという面での特性を解  
434 析する目的で行うウイルスクリアランス工程特性解析試験に使用されるウイルス。

435

436 関連ウイルス

437 製造原料に混在することが知られているか、あるいは存在の可能性があるウイルス類と  
438 同一又は同種のウイルスで、ウイルスクリアランス工程評価試験に用いられるもの。

439

440 特異的モデルウイルス

441 存在が知られている、あるいは存在が疑われるウイルスに、密接に関連しているウイルス。  
442 すなわち、同一の属もしくは科のもので、検出されたウイルスあるいは存在が疑われるウイ  
443 ルスと類似した物理的・化学的性質を有するウイルスで、ウイルスクリアランス工程評価試  
444 験に用いられるもの。

445

446 ウイルスクリアランス工程特性解析試験 (Process Characterization of Viral Clearance)

447 原料血液及び製造に用いる工程由来のウイルスを対象として、製造工程がウイルスクリ  
448 アランス能を確実に発揮するという面での特性 (robustness) を解析することを目的に、「非  
449 特異的モデルウイルス」を用いて行われるウイルスクリアランス試験。

450

451 ウイルスクリアランス工程評価試験 (Process Evaluation Studies of Viral Clearance)

452 存在が知られているか予測されるウイルスに関して製造工程が有するウイルスクリア  
453 ランス能を解析することを目的に、「関連ウイルス」や「特異的モデルウイルス」を用いて行  
454 われるウイルスクリアランス試験。

455

456 不活化

457 化学的又は物理的修飾によって引き起こされるウイルス感染性の減少。

458

459 除去

460 目的とする製品からのウイルス粒子の物理的分離。

461

462 ウィンドウ期 (ウィンドウ・ピリオド)

463 ウイルス等の病原体に感染してから、検査で検出できるようになるまでの空白期間。

464

465 遡及調査

466 献血後情報及び輸血後情報を収集し、ウイルス汚染の可能性が認められた場合、当該情報  
467 等を用いて、どの供血者の原料血液又はどのプール血漿が汚染されていたのかを明らかに  
468 すること。

469

470 貯留保管 (inventory hold)

471 血液製剤による感染症防止のため、一定期間原料を保管し、輸血等による安全性に係る問  
472 題が発生しなかった原料、あるいは次回以降の採血した検査においてウイルス汚染の問題  
473 のない場合に保管してある原料を、医薬品の製造に用いる。このように原血漿をその安全性  
474 の確認まで一定期間保管することを指す。

475

476 中間原料

477 血漿分画製剤の製造の初期工程で原血漿にエタノール処理や脱クリオ処理等を行い、部  
478 分的に分画して得た血漿分画製剤製造のための原料。

479

480 S/D (有機溶媒/界面活性剤) 処理

481 不活化方法の 1 つで、有機溶媒がウイルスの膜成分を破壊してウイルスの感染性を失わ  
482 せる方法。

483 界面活性剤は有機溶媒のウイルス膜への作用を促進する目的で用いられる。

484

485 核酸増幅検査 (NAT)

486 ウイルス等の遺伝子を検出するため、目的とする DNA や RNA 遺伝子の特定領域を種々  
487 の酵素を用いて増幅させ、検出する検査方法。

488

489 プール血漿

490 血漿分画製剤を製造する原料として、多人数 (通常 5,000~数万人) の血漿を集めてプー  
491 ルしたもの。

492

493 ミニプール血漿

494 原材料のウイルス試験を行うために、数十人から数百人の血漿からサンプルを少量ずつ  
495 取り混合したもの。

496

497 標準品

498 適切な特性解析がなされた医薬品の力価や毒性、ゲノム量等を測定する際に、その基準と  
499 して用いる物質。

500

501 ウイルスクリアランス

502 目標とするウイルスを、ウイルス粒子の除去又はウイルス感染性の不活化により排除す  
503 ること。

504

505 頑健性の高い工程

506 4log 以上のウイルスクリアランス能のある工程を想定しているが、非常に高いウイルス  
507 クリアランス能のある工程を意味し、ウイルスクリアランス試験のデータについて誤差範  
508 囲として 1log の差異もありえることから、4log という値は目標値であり限度値を指すわけ  
509 ではない。

510

別紙

ウイルスクリアランス試験に用いられるウイルス例

ウイルス	略号	科	属	自然宿主	ゲノム	脂質膜	サイズ (nm)	形状	物理的・化学的処理に 対する耐性
水疱性口内炎ウイルス	VSV	ラブドウイルス	ベシクロウイルス	ウマ、ウシ	RNA	あり	70×175	弾丸形	低
パラインフルエンザウイルス	PI-3	パラミクソウイルス	パラミクソウイルス	種々	RNA	あり	100 ~ 200	多形・球形	低
ヒト免疫不全ウイルス	HIV	レトロウイルス	レンチウイルス	ヒト	RNA	あり	80~100	球形	低
マウス白血病ウイルス	MuLV	レトロウイルス	C型オンコウイルス	マウス	RNA	あり	80~110	球形	低
シンドビスウイルス	SIN	トガウイルス	アルファウイルス	ヒト	RNA	あり	60~70	球形	低
ウシウイルス性下痢ウイルス	BVDV	フラビウイルス	ベスチウイルス	ウシ	RNA	あり	50~70	多形・球形	低
仮性狂犬病ウイルス	PRV	ヘルペスウイルス	バリセロウイルス	ブタ	DNA	あり	120 ~ 200	球形	中
ポリオウイルス SabinI型	Polio-I	ピコルナウイルス	エンテロウイルス	ヒト	RNA	なし	20~30	正二十面体	中
脳心筋炎ウイルス	EMC	ピコルナウイルス	カルジオウイルス	マウス	RNA	なし	25~30	正二十面体	中



ウイルス	略号	科	属	自然宿主	ゲノム	脂質膜	サイズ (nm)	形状	物理的・化学的処理に 対する耐性
レオウイルス 3	REO-3	レオウイルス	オルソレオウ ウイルス	種々	RNA	なし	60~80	球形	中
A 型肝炎ウイル ス	HAV	ピコルナウイ ルス	ヘパトウイル ス	ヒト	RNA	なし	25~30	正二十面 体	高
シミアンウイル ス 40	SV40	パポバウイル ス	ポリオーマウ ウイルス	サル	DNA	なし	40~50	正二十面 体	非常に高い
ブタパルボウイ ルス	PPV	パルボウイル ス	パルボウイル ス	ブタ	DNA	なし	18~24	正二十面 体	非常に高い
イヌパルボウイ ルス	CPV	パルボウイル ス	パルボウイル ス	イヌ	DNA	なし	18~24	正二十面 体	非常に高い

この表は血漿分画製剤のウイルスクリアランス試験に用いられたことのあるウイルスの例を示すものである。したがって、表中に記載されたウイルスの使用を強制するものではなく、他の適切なウイルスを選定することも可能である。