

ら陽性となり、もっとも高感度であった。なお、抗原検査は194日目では判定保留となったが抗原・抗体コンビネーション法は検出できた。抗体検査のELISAは78日目の検体を検出できなかったが数種類のELISAが同様な結果であった。

表3はAG:PRB935の結果である。ELISA、PA、ICAおよびWBは最初の採血日から数えて43日目から陽性となった。一方、抗原検査法および抗原・抗体コンビネーション法は28日目から陽性となった。PCR法とTMA法は24日目から陽性となり、ウインドウ期間を数日短縮できることになる。

II. TMA法 (DNAプローブ「中外」)の特異性、ロット間差に関する検討

B. 研究方法

TMA法のDNAプローブ「中外」について感度、特異性等を検討した。セロコンパニオンパネル、サブタイプBとEのHIV感染検体および非感染検体を用いた。なお、HIV感染検体の一部は日赤血液センターから供与されたものを用いた。測定は自動機器が完成していないのですべてマニュアルで実施した。

C. 研究結果

①特異性について

HIV-1感染者93検体(サブタイプB60検体、サブタイプE33検体)、HIV非感染者19検体(HTLV-1陽性検体3検体、健常者16検体)を用いてDNAプローブ「中外」の特異性を検討した。表4に示すようにサブタイプE陽性の1検体がウイルス量が少ないため7回測定中3回は陽性となったが4回は陰性となった。この検体は日本赤十字血液センターから供与されたHIV抗体陽性の献血血液であった。HIV非感染者の検体はすべて陰性となり、操作中のコンタミネーションは認められなかった。

②感度について

HIV-1抗体検査(ELISA)、HIV-1抗原検査(ELISA)、HIV RNA定量法(PCR)と感度の

比較を行った(表5)。BBI社のセロコンパニオンパネル(PR932)での比較ではPCR法が27日目から検出しているのに対してTMA法は13日目から低い値ではあるが検出でき、1回早い採血から検出可能であった。なお、抗体検査では27日目にかろうじて陽性となったが78日目では陰性となり194日目でも再び陽性となった。抗原検査は27日目から陽性となったが78日目からは徐々に減少した。

③ロット間差について

3ロットについてHIV-1感染者72検体、HIV-1非感染者16検体を用いてロット間差を検討した(表6)。Lot9804とLot9806はHIV-1感染者1例を検出できなかった。検出できなかった検体は同一の検体であった。陰性検体のロット間差は認められなかった。

D. 考察

1) WB < 抗体検査 < 抗原検査 = 抗原・抗体コンビネーション法 < PCR ≤ TMAの順に感度が高くなることがわかった。

遺伝子検査法は感度が高いことがわかったがサブタイプEの1検体が検出できなかった。この原因としてはウイルス量の問題、プライマーのマッチング、操作法、ロット間差などが考えられる。種々のサブタイプに対応できるプライマー設定が必要である。なお、原液で検出できない検体があったことから考えて、血清をプールする場合はプールする本数と経済効率などを慎重に検討する必要がある。また、血清学的検査に比べ、マニュアル法での大量検体処理は困難である。更に手技者の操作法によってばらつきが生じやすい。操作には訓練が必要であると共に自動機器の早急な開発が望まれる。更に血清量を増やせば感度を高くすることが可能であり、次世代のアンプリコアHIV-1モーターは0.5 mLの血漿量を用いて超遠心することにより検出限界を50コピー/mLにまで高めることもできる。しかし、操作が複雑で献血血液のスクリーニングには採用しにくい。

2) 従来から言われているようにWBは

スクリーニング検査よりも感度が悪い。

3) 抗原・抗体コンビネーション法は抗体検査に比べ高感度であるのでウィンドウ期間が短縮でき、手技的には抗体検査と同じであるので、多数の陽性検体をスクリーニングするにはよい方法である。

4) 異なった方法やキットの感度を比較するにはBBI[®]は有用であり、世界的な比較が可能である。なお、HIV検査法の感度を比較する際、セロコンバージョン[®]が有用であるが1種類の[®]では感度の違いが明らかにならないので数種類用いる方がよい。AG:PRB932はELISAで78日目の検体を検出できないが一般的に感染後抗体が検出された感染者は終生抗体が検出できると考えられているが個々の感染症例を詳細に観察すると抗体量の変動するため、ある時期では抗体量が低下して検出しにくいキットもあり得ることを示唆する貴重な[®]である。

5) 種々のキットの感度比較や精度管理にはセロコンバージョンパネルの使用や自家製血清パネルを整備しておくことが必要である。

E. 結論

遺伝子検査法は高感度ではあるが抗体陽性検体が陰性になることがあるので遺伝子検査の導入は抗体検査法などの血清学的検査と併用する必要がある。なお、検体をプールした検体の場合はより詳細な検討が必要である。抗原・抗体コンビネーション法はウィンドウ期間を短縮でき、操作も抗体検査と同様であるので献血血液のスクリーニングに適している。WBはスクリーニング法よりも感度が悪いので判定には十分な注意が必要である。

表2 Comparison of sensitivity with various methods
by HIV-1 seroconversion samples(BBI;AG:PRB932)

Day	Method							
	ELISA Ab	PA Ab	ICA Ab	ELISA Ag	ELISA Ag+Ab	WB Ab	PCR RNA	TMA RNA
0	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
3	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
13	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos
27	Pos	Pos	IND	Pos	Pos	Neg	Pos	Pos
34	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
50	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
78	Neg	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
163	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
194	Pos	Pos	Pos	IND	Pos	Pos	Pos	Pos

表3 Comparison of sensitivity with various methods by HIV-1 seroconversion samples (BBI;AJ:PRB935)

Day	Method							
	ELISA Ab	PA Ab	ICA Ab	ELISA Ag	ELISA Ag+Ab	WB Ab	PCR RNA	TMA RNA
0	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
10	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
16	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
21	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
24	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos	Pos
28	Neg	Neg	Neg	Pos	Pos	Neg	Pos	Pos
43	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos

Test kits licensed by the U. S. FDA (PRB917)

Day	A	A	B	C	D	D	E	F
	ELISA-1	ELISA-2	ELISA	ELISA	ELISA-1	ELISA-2	ELISA	ELISA
(1) 0	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
(2) 53	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
(3) 57	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
(4) 60	Neg	Pos	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
(5) 65	Neg	Pos	Pos	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos
(6) 67	Neg	Pos	Pos	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos

表 4 特異性試験

	検査数	陽性数	陰性数
HIV-1感染者			
サブタイプB	60	60	0
サブタイプE	33	33 ^{1*}	0
HIV非感染者			
HTLV-I陽性	3	0	3
健常者	16	0	16

1* : ウイルス量が検出限界以下の検体1例は
7回測定して3回陽性、4回陰性となった。

表 5 HIV-1 SEROCONVERSION PANEL

I. D. #	Days Since	DNA プロブ「中外」 S/CO		Abbott HIV-1/2* ¹	Abbott HIV* ²	Roche PCR HIV RNA
PRB932-01	0	0.10	Nonreactive	0.1	0.4	BLD
PRB932-02	3	0.12	Nonreactive	0.1	0.4	BLD
PRB932-03	13	4.09	Reactive	0.2	0.4	BLD
PRB932-04	27	12.73	Reactive	1.1	4.6	4×10 ³
PRB932-05	34	13.15	Reactive	12.5	6.1	5×10 ⁵
PRB932-06	50	12.64	Reactive	1.7	1.9	2×10 ⁵
PRB932-07	78	13.04	Reactive	0.6	3.2	4×10 ⁵
PRB932-08	163	12.92	Reactive	2.1	1.8	3×10 ⁵
PRB932-09	194	12.88	Reactive	8.6	1.0	7×10 ⁴

*1:anti-HIV EIA Test

*2:HIV Antigen Test

BLD:below limits of detection

表 6 ロット間差

ロット番号		9804		9805		9806	
	検査数	陽性数	陰性数	陽性数	陰性数	陽性数	陰性数
HIV-1(+)	72	71	1*	72	0	71	1*
HIV(-)	16	0	16	0	16	0	16

HIV-1(+) : HIV-1感染者血漿

HIV(-) : HIV非感染者血漿

* 「アンプリコアHIVモニター」で検出限界以下。Lot. 9805ではS/COが2.69で陽性となった。