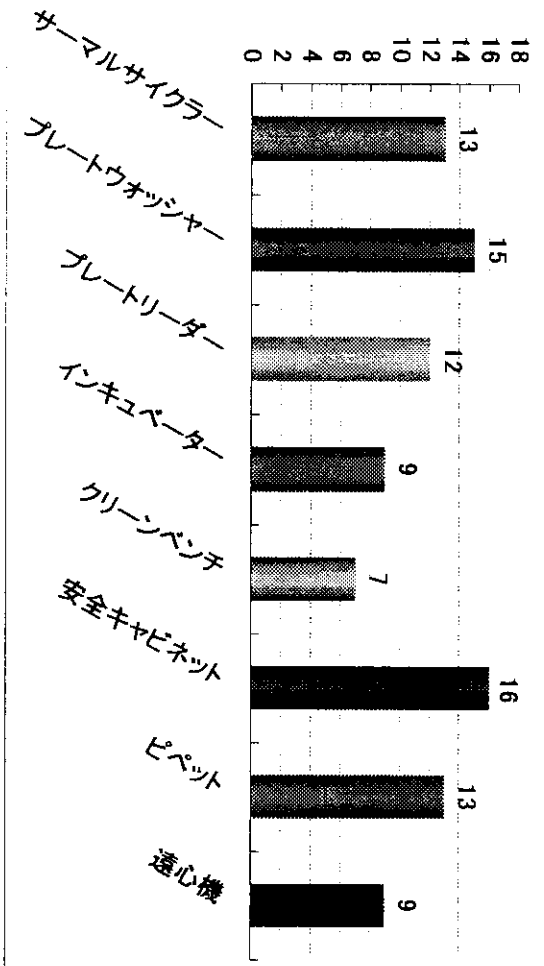
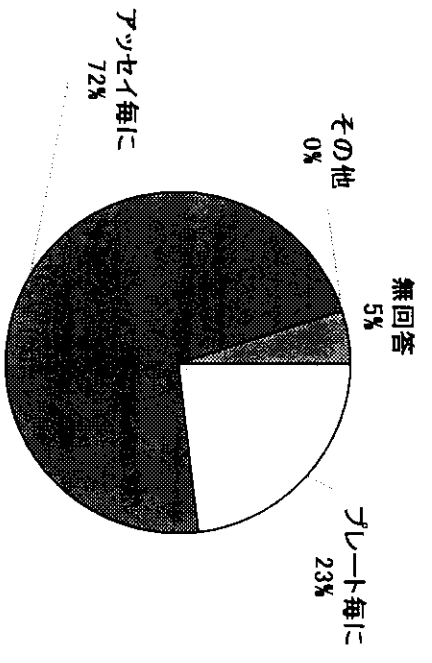


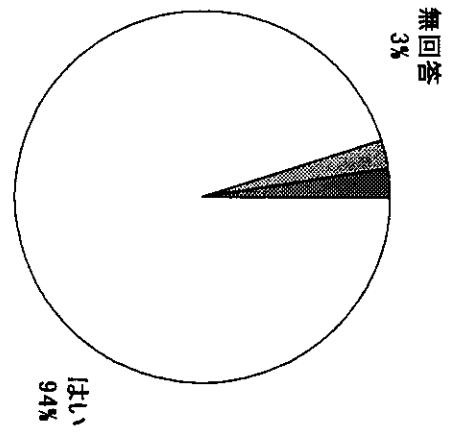
Q12.(補) 保守を行っている機器



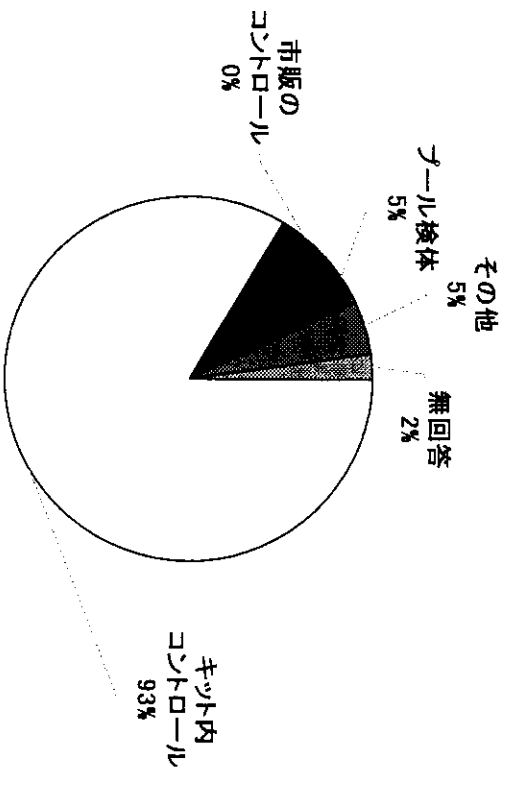
Q13.(補1)管理試料による精度管理は具体的にどのような行っていますか？



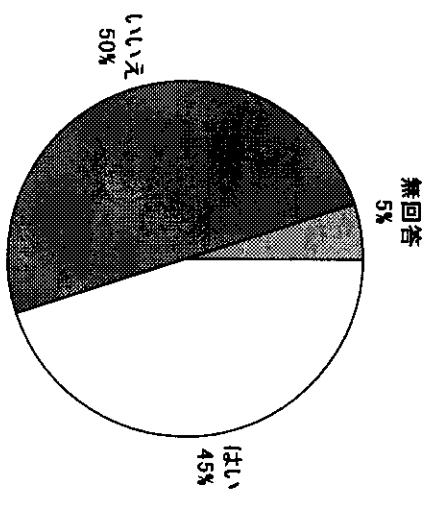
Q13. HIV-1 RNA量測定に際し、管理試料による精度管理を行っていますか？



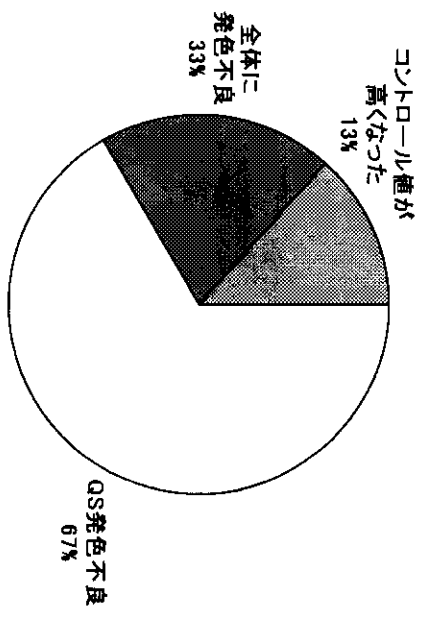
Q13.(補2)精度管理用試料は何を使用していますか？



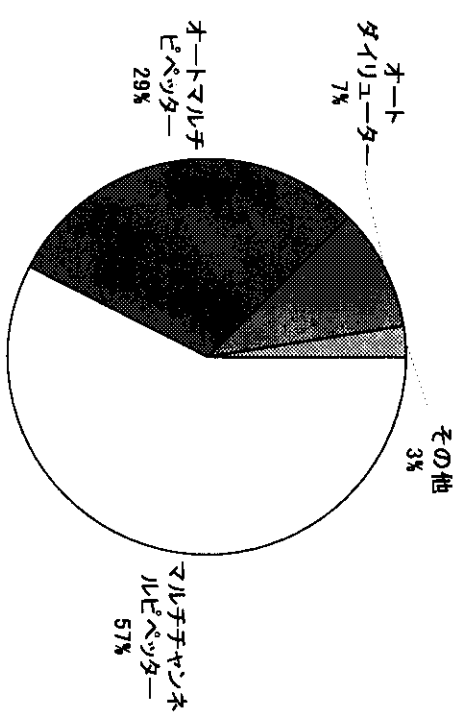
Q14. 測定に関してのトラブルの経験はありますか？



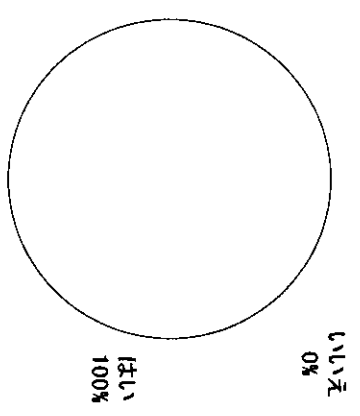
Q14(補) 具体的にはどのようなトラブルでしたか？



Q15. 増幅産物の希釈はどのように行っていますか？



Q16. 今回のようなコントロールサーベイは必要であるとお考えですか？



分担研究報告書（まとめ）

HIV 検査の精度管理に関する研究

分担研究者 吉原なみ子 国立感染症研究所 エイズ研究センター 室長

研究要旨：原料血漿中の HIV スクリーニング検査について検討した。検出感度は WB < 抗体検査 < p24 抗原検査 = 第4世代検査 < PCR（定量法）< TMA（定性法）の順に感度が高くなり、WB はスクリーニング陽性検体を陰性と判定することあることがわかった。PCR や TMA は高感度であるがサブタイプの違いやプライマーが合わない場合などは検出できないこともあるので、スクリーニングには抗体検査も併用すべきことが明らかになった。スクリーニング検査では第4世代がもっとも高感度であった。市場で販売している全製品の感度について同一パネルによって再点検を実施した結果、厚生省とメーカーの協力のもとで16製品中6製品を発売停止に、1製品をスクリーニングではなく型判別のための使用に変更した。

評価にはセロコンバージョンパネルや感染初期検体などの血清パネルを準備しておく必要がる。

また、アンプリコア HIV-1 Ver1.5 を使っている全施設にアンケート調査を実施して、精度管理の実態を把握した。その結果、検体の取り扱い、作業の消毒、測定機器の保守点検などに問題が認められた。アンケートに参加した施設からコントロールサーベイの必要性および要望があることがわかった。

A. 研究目的

感染性のない安全な血液製剤を製造するために、HIV の場合は原料血漿を血清学的検査（HIV 抗体検査）でスクリーニングしていたが1999年からは抗体検査に加えて遺伝子検査法（NAT: Nucleic acid Amplification Test）も併用している。NAT の導入により、window period が平均21日から11日に短縮さえることになったことになる。しかし、この window period は

もっとも高感度な方法を用いた場合であり、すべての HIV 検査が同じような性能であるとは限らない。市販の HIV 検査キットの感度および特異性を検討した。これらの結果から感度の悪い検査キットは販売停止にし、市場に感度および特異性の良好な製品だけが残るような再点検精度を導入した。また、NAT を実施している全施設に対してアンケート調査を実施し、現状を把握すると共に今後改良すべき問題点を検索した。

B. 研究方法

HIV 検査の感度を比較する目的で、検査方法が異なる代表的な HIV 検査キットを同一パネルを用いて感度を比較した。HIV 抗体検査は ELISA, PA(Particle Agglutination) 法、ICA(Immuno Chromatography Assay)、P24 抗原検査法、第 4 世代 (抗原・抗体検査法)、WB (Western Blotting) 法、定量用 PCR (アンプリコア HIV-1 モニター)、TMA(Transcription Mediated Amplification) の 8 種類の方法を用いた。比較に用いたパネルは世界的に比べられように市販品の BBI 社 (Boston Biomedica Inc.) の数種類のセロコンバージョンパネルを用いた。

これらの結果から方法およびキットによって感度の違いがあることが判明した。

次に、日本で市販している全 HIV 抗体検査キット (抗体検査キット: 15 種および第 4 世代キット: 1 種、合計 16 種類) の感度および特異性を検討した。比較検討には陰性検体、感染初期検体、セロコンバージョンパネルで構成される 57 本の血清パネルを用いた。

更に近年普及しつつある NAT 検査の検査室における精度管理に関して、アンケート調査を実施した。アンケートは現在、アンプリコア HIV-1 モニター Ver1.5 を使っているまたは使ったことのある全施設 (40 施設) を対象に郵送し、答えは fax または郵送で返却された。

C. 研究結果

BBI パネルを用いた感度比較から HIV 抗体のスクリーニングに用いられている ELISA, PA, ICA はほぼ同様な感度であるがその中で ICA は簡便であるが他のスク

リーニング法 (ELISA, PA) に比べてパネルによっては若干感度が低いものがあった。またスクリーニング法はセロコンバージョンパネル (AF:PRB931) で 28 日目から検出できるが、WB では 33 日目以前は陰性であることなど、低感度であった。すなわち、感度の高いスクリーニング法で検査した場合、WB が低感度であるため確認検査で陰性となってしまう。また、P24 抗原検査は抗体検査よりも約 1 週間早く検出できた。第 4 世代のキットは抗体検査と同じ手技であるが抗体検査と p24 抗原検査の両者の特徴を持つので、抗体検査に比べて感染初期を捕らえられ、スクリーニング検査に有効な方法である。定量 PCR は P24 抗原検査および第 4 世代の検査よりも約 1 週間早く検出できた。定性法の TMA は定量 PCR よりも更に 1 週間早く検出できた。しかし、TMA は抗体価の高いサブタイプ E の検体を検出できなかった。

1999 年現在で市販されている HIV 抗体検査キット 16 種類について感度および特異性を検討した結果、6 種類は感度が低いために販売停止となった。また、1 製品はスクリーニングに用いた場合は現在の他のキットに比べ感度が若干劣るが HIV の 1 型と 2 型に分けのキットとしては有用であることおよびアジアやアフリカなど海外では多く使われていることなどから、スクリーニング後の HIV-1 と HIV-2 の型分けに使うよう目的が変更して市販するような指導がなされた。

NAT に関するアンケート調査はすべての施設から回答が得られ、回収率は 100% であった。近年、NAT 検査を採用する施設は増えているが検査件数は激増してお

らず、そのため、2/3の施設では1週間に1回以内もしくは1ヶ月に1回程度で、ある程度まとめて検査している。2/3の施設は1人または2人で検査を担当している。採決後、血清または血漿分離までは6時間以内におこなうべきであるが20%の施設は1日以上経過してから分離している。また、試薬調整、増幅、検出の作業エリアの分離は85%の施設が実行している。消毒については77%が作業の前後で消毒をしているがまったくしていない施設(3%)や実施後のみ(10%)の施設もあった。機器の保守点検に関してはまったくしていない施設が37%、定期的な保守をしている施設は18%、不定期に検査する施設が42%であり、ほとんどの施設が測定機器の保守について関心が薄いことがわかった。測定時の管理試料による精度管理は94%が実施しているがそのうちの93%はキット内のコントロールによるもののみであった。測定上のトラブルに関する質問では45%の施設がトラブルを経験していた。具体的にはQSの発色不良がもっとも多く67%であり、その他、全体に発色不良が33%、コントロールの発色不良が13%であった。すべての施設がコントロールサーベイを希望しており、各施設は少数の人数で問題および不安を抱えながらNAT検査をしていることアンケート調査からわかった。

D. 考察

HIV検査はWB < 抗体検査 < 抗原検査 = 第4世代検査 < PCR(定量法) < TMA(定性法)の順で感度が良くなることがわかった。また、同じ検査法でもキットによ

って若干感度に違いがあることがわかった。NAT法は高感度であるがサブタイプによっては捕らえられないこともあるので注意が必要である。確認法であるWBはスクリーニング法よりも感度が低いので、スクリーニング法で陽性の感染初期検体を陰性にしてしまうことがあることがわかった。日本では診断薬の再評価制度がないが、診断薬は日進月歩であるので、数年ごとの再評価は必要である。今回実施した全HIV抗体検査の再点検は市場に良い製品のみを残すという意味で有用であった。今後、他の製品にも導入することが望ましい。

NAT検査を実施する施設が増えているが検体数の増加は緩やかである。検査の手技的な問題はもとより、検体の取り扱い、作業現場の消毒や機器の保守点検、精度管理など問題があることがアンケート調査からわかった。各施設に応じた保守点検および精度管理マニュアルを整備しておく必要がある。なお、定期的にコントロールサーベイは正確な検査が行なわれているかどうか判断するために有用な手段である。

E. 結語

PCRなど遺伝子検査法は高感度であるがサブタイプなどによっては抗体価が高い検体でも見逃すことがあるので、遺伝子検査の導入は抗体検査と併用する必要がある。第4世代の検査はP24抗原検査と抗体検査のコンビネーションであるので、感染初期が捕らえられるので血液製剤のスクリーニングに適している。なお、スクリーニングのキットでもメーカーの違いや方法の違い、また、認可された時期によって感度が異なるので、市場に一定レベル以上の製品が出

回るためには定期的な再評価（再点検）をし、感度や特異性が不十分なキットは発売停止にするなどの処置が必要である。種々のキットの感度比較や精度管理を実施するため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。更に、NAT 法を含め、検査室に応じた保守点検マニュアルの整備およびコントロールサーベイは精度管理に有用である。

表

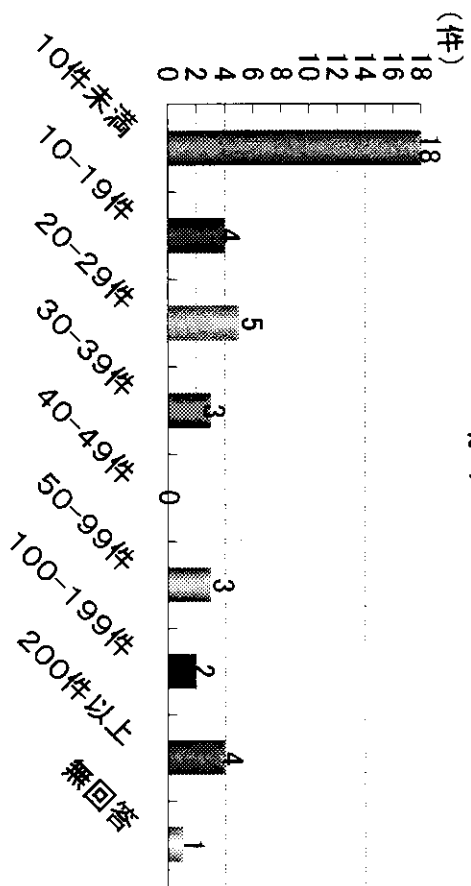
日本で認可された HIV検査キット一覧(2000.1)

| 販売名 | 製造/輸入業者 | 検査項目 | 承認年月日 | 備考 |
|---------------------------------|--------------------|-------|----------|---------------|
| セロダイア-HIV | 富士レビオ | 抗体 | 86/11/18 | 販売停止(1999/11) |
| ルミパルスHIV-1/2 | 富士レビオ | 抗体 | 92/08/23 | |
| セロダイアHIV-1/2 | 富士レビオ | 抗体 | 92/12/28 | 確認用のみ |
| ジエネダイアHIV-1/2ミックスPA | 富士レビオ | 抗体 | 95/02/15 | |
| ジエネラピア ミックス | サノア富士レビオダイアグノステイクス | 抗体 | 95/05/30 | 販売停止(1999/11) |
| アクセス(HIV-1/2) | 日本サノア | 抗体 | 95/08/24 | 販売停止(1999/11) |
| オートエースHIV | アズケル | 抗体 | 95/10/24 | 販売停止(1999/11) |
| ジエネダイアHIV-1/2ミックスPAオート | 富士レビオ | 抗体 | 96/02/08 | |
| エンザイグノストAnti-HIV-1/2プラス | デイトベールンガ | 抗体 | 96/05/01 | |
| HIV-1/HIV-2 EIA PLUS「アボット」 | ダイナボット | 抗体 | 96/06/12 | 販売停止(2000/3) |
| コバシ コアAnti-HIV-1/HIV-2 EIA DAGS | ロシユ・ダイアグノステイクス | 抗体 | 96/12/19 | |
| HIV-1/HIV-2 ダイナボット | ダイナボット | 抗体 | 96/12/20 | |
| ジエンスクリーンHIV-1/2 | サノア富士レビオダイアグノステイクス | 抗体 | 97/09/22 | |
| バイダス アッセイキットHIV-1/2 Ig G | 日本ビオメリュー | 抗体 | 97/12/03 | 販売停止(1999/11) |
| ダイナスクリーン HIV-1/2 | ダイナボット | 抗体 | 98/08/25 | |
| VIDAS DUO | 日本ビオメリュー | 抗原・抗体 | 99/11/22 | |

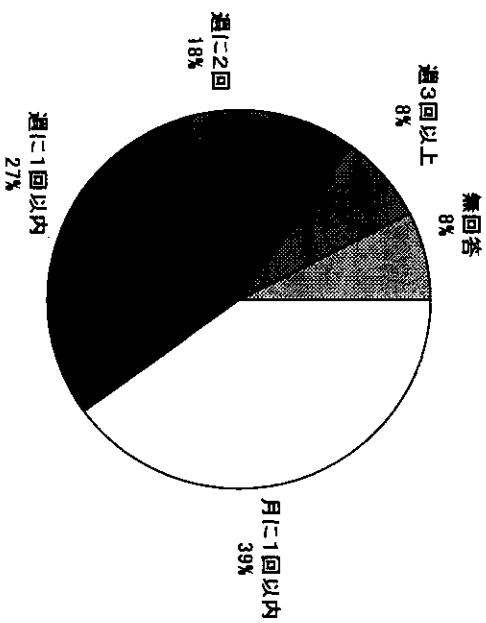
**表2 Comparison of sensitivity with various methods
by HIV-1 seroconversion samples (BBI;AG:PRB932)**

| 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 |

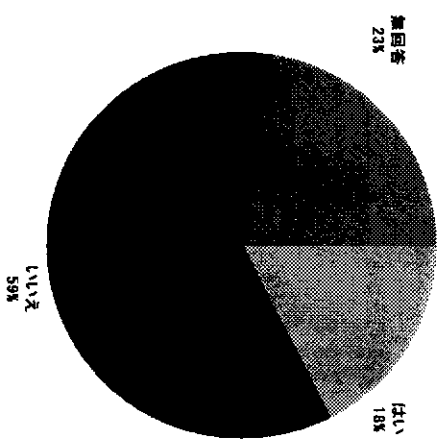
Q1. HIV-1 RNA量測定の間隔依頼数はどれくらいですか？



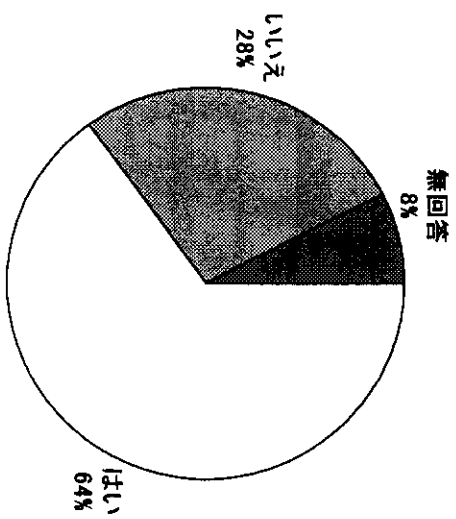
Q3. HIV-1 RNA量測定の頻度はどれくらいですか？



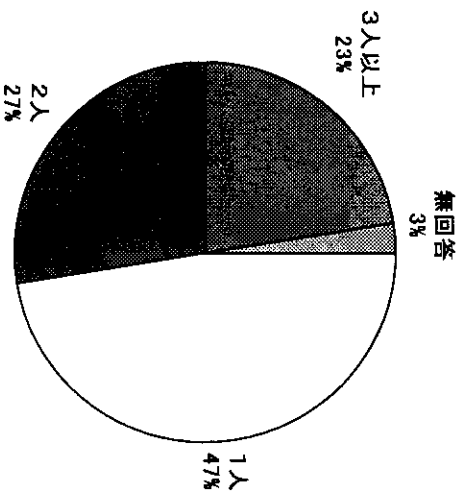
Q2. HIV-1 RNA量測定の依頼数は高感度法が測定できるようになってから、それ以前と比べ増加しましたか？



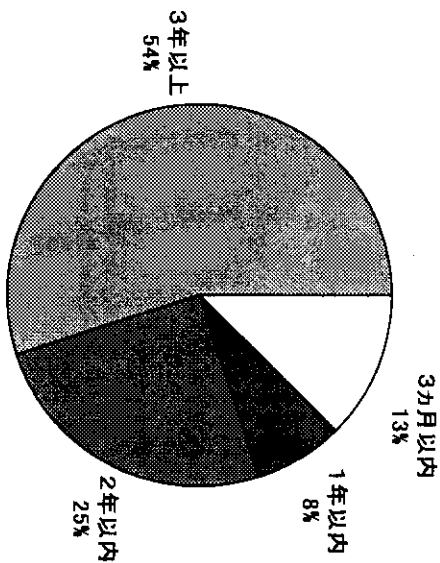
Q4. 高感度法の測定を施設内で行っていますか？



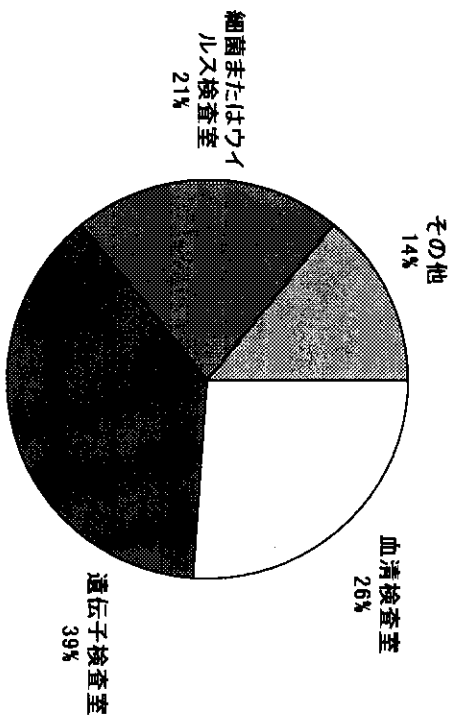
Q5. HIV-1 RNA量測定を担当技師は何人ですか？



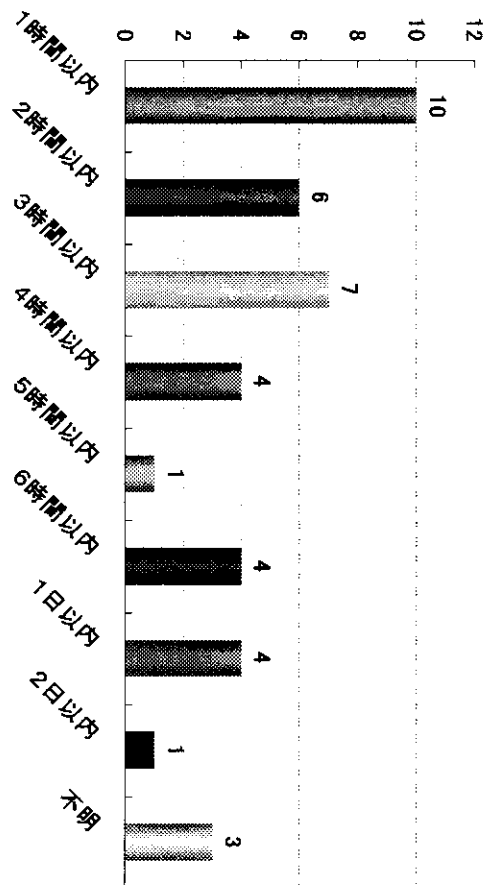
Q6. HIV-1 RNA量測定をはじめてどれくらいですか？



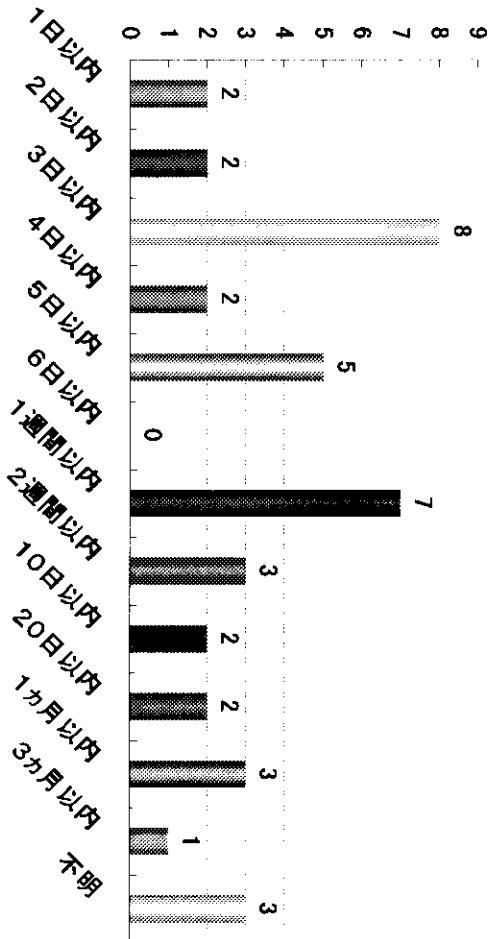
Q7. HIV-1 RNA量測定はどちらで行っていますか？



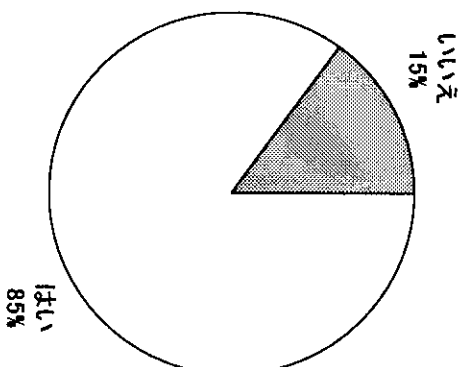
Q8. 採血後、血清または血漿分離までの時間はどれくらいですか？



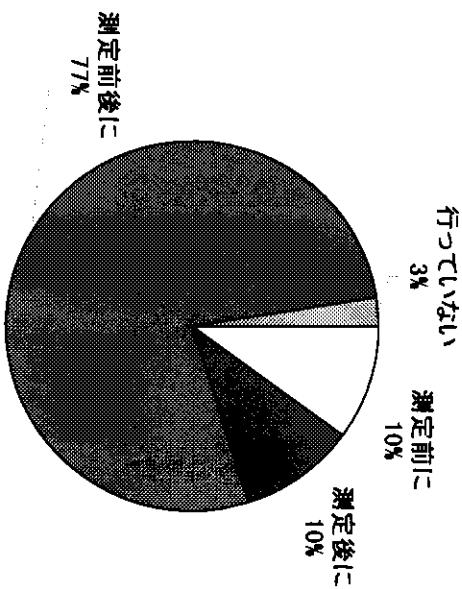
Q9. 採血後、測定までの時間はどれくらいですか？



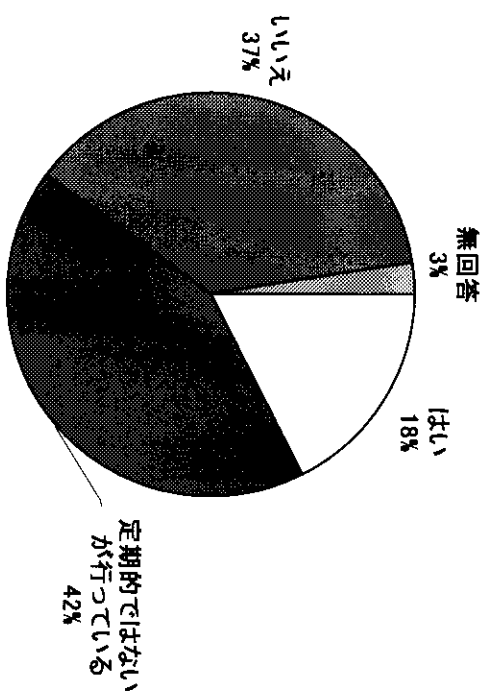
Q10. 3つの作業エリアはきちんと分けられていますか？



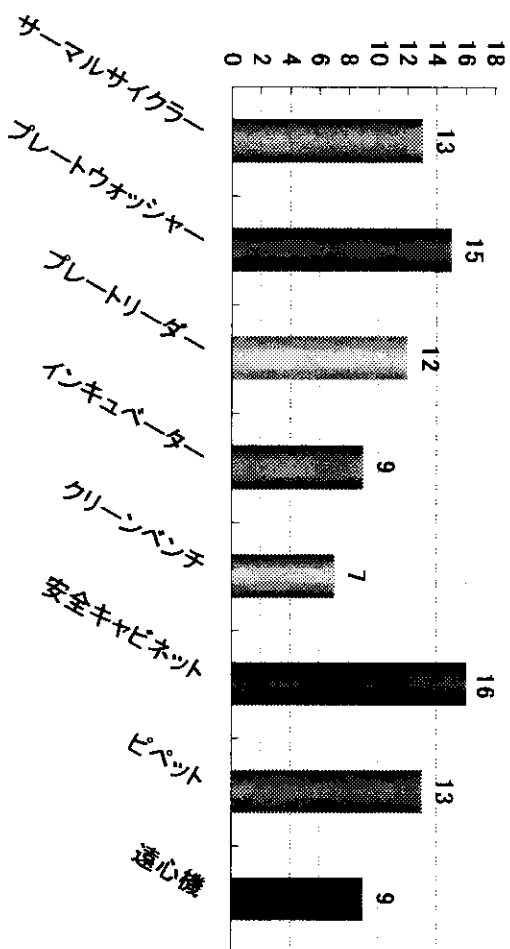
Q11. 作業エリアの消毒を行っていますか？



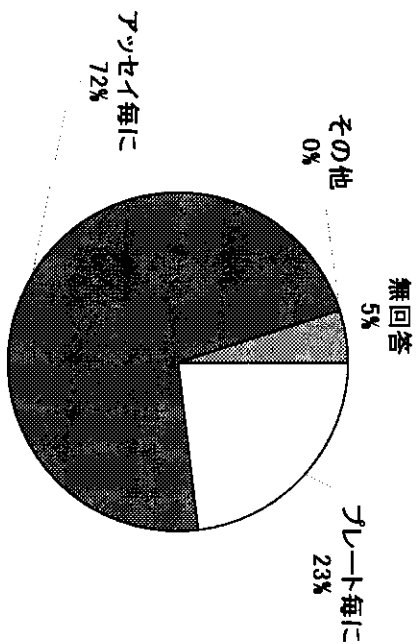
Q12. HIV-1 RNA量測定に用いる測定機器の定期的な保守は行っていますか？



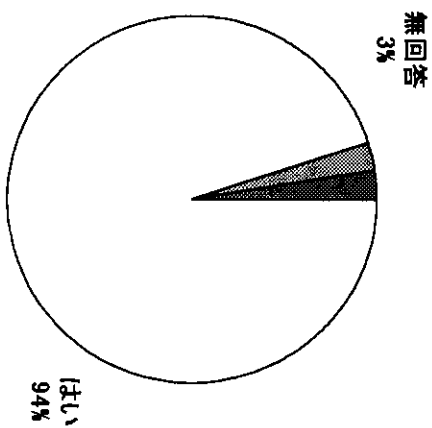
Q12.(補) 保守を行っている機器



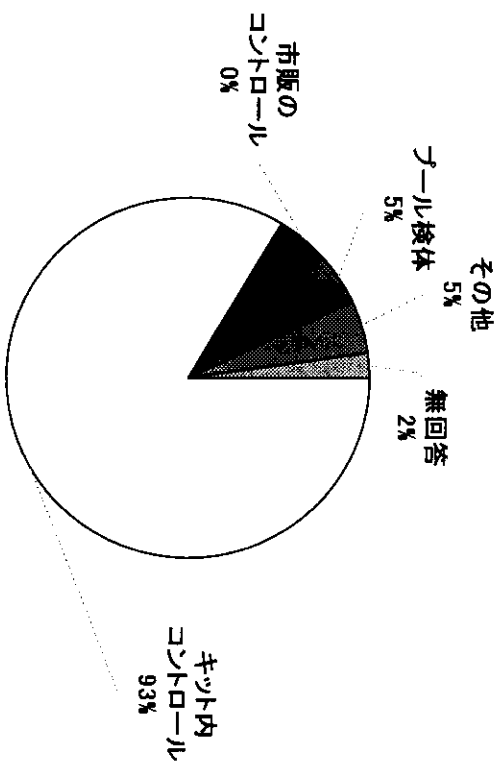
Q13.(補1)管理試料による精度管理は具体的にどのような行っていますか？



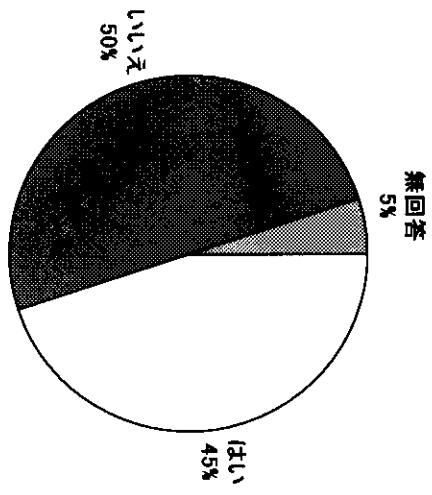
Q13. HIV-1 RNA量測定に際し、管理試料による精度管理を行っていますか？



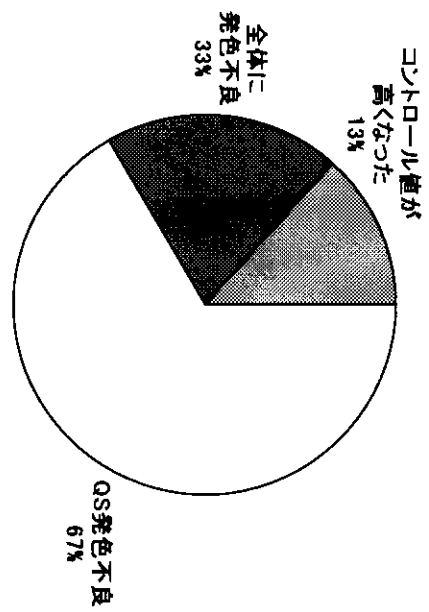
Q13.(補2)精度管理用試料は何を使用していますか？



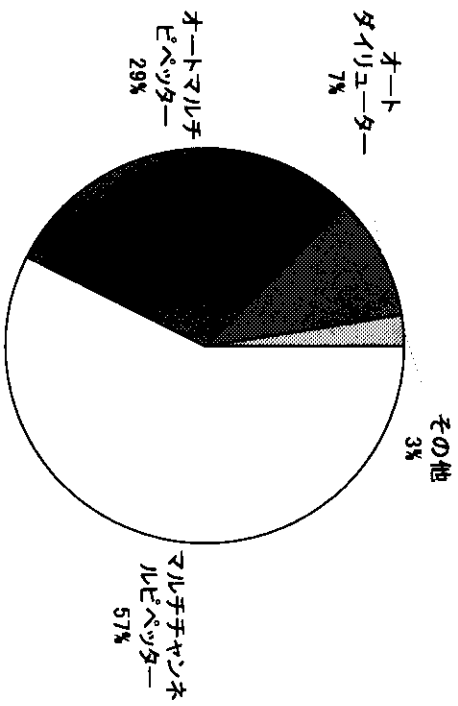
Q14. 測定に関してのトランプルの経験はありますか？



Q14.(補) 具体的にはどのようなトランプルでしたか？



Q15. 増幅産物の希釈はどのように行っていますか？



Q16. 今回のようなコントロールサーベイは必要であるとお考えですか？

