

## 地方衛生研究所が担う HIV 検査の現状評価と課題の解決

研究分担者 貞升 健志 東京都健康安全研究センター 微生物部

研究協力者 長島 真美<sup>1</sup>、北村 有里恵<sup>1</sup>、新開 敬行<sup>1</sup>、三宅 啓文<sup>1</sup>、水戸部 森歌<sup>1</sup>  
横山 敬子<sup>1</sup>、近藤 真規子<sup>2</sup>、川畑 拓也<sup>3</sup>、松岡 佐織<sup>4</sup>

<sup>1</sup> 東京都健康安全研究センター 微生物部

<sup>2</sup> 神奈川県衛生研究所、<sup>3</sup> 大阪健康安全基盤研究所、<sup>4</sup> 国立感染症研究所

### 研究要旨

全国の衛生研究所（地研）等を対象に実施した HIV 検査に係るアンケート調査で、HIV 精度管理への参加を希望した 40 地研に、血漿 1mL の 4 サンプルをジュラルミンケース包装のゆうパックにて送付、各地研で実施した結果をメールにて受け取り、集計した（第 1 回）。さらに、第 2 回目の精度管理を企画したところ、40 地研のうち 28 地研が参加した。

第 1 回目の精度管理の結果では、HIV-1 の感染初期検体の HIV-1 WB 法や HIV-1 陽性血清の HIV-2 WB 法の判定で一致率がやや低かったが、第 2 回目の精度管理調査ではほぼ解消され、一致率は高くなった。第 1 回目の結果の一致率が低かった要因として、HIV-2 WB 法の判定と感染初期例における HIV-1 の核酸増幅検査の実施率が影響していると考えられ、第 2 回参加施設では問題はほぼ解消されていたことから、地研における HIV 検査精度の維持、向上のためには、以上の点に注視する必要性が感じられた。

### A. 研究目的

保健所における VCT (Voluntary Counseling and Testing) による HIV 検査事業は、全国の地方衛生研究所（以下、地研）が検査の中心となり、昭和 62 年 3 月より開始された。その事業は保健所で採血を行い、衛生研究所にてスクリーニング検査または確認検査を実施した後、保健所へ結果を返却することで成り立っている。

しかしながら、近年、即日検査や郵送検査等の検査の多様化が進み、今までとは違った検査のシステム構造ができていく。受検者の選択肢が増えたことで、我が国における HIV 検査数、陽性者数や陽性者の病院への受診者数の把握が困難になっているのも事実といえる。WHO の掲げる 90-90-90 の実現のためには、数の計数管理ができる検査数の増大が必要であり、日本においては VCT の検査拠点となってきた各地研の果たす役

今回、2017 年 1、10 月に HIV 精度管理を希望する地研を対象に血漿検体を送付し、HIV 検査の精度管理を実施したのでその概要を報告する。

### B. 研究方法

#### 1. HIV 精度管理調査

2016 年 9 月に実施した全国の 81 カ所の地研等を対象とした HIV 検査に係るアンケート調査で、精度管理調査に興味を示した 51 施設のうち（図 1）、実際に参加を希望した 40 地研に 01~04 の 4 サンプルをジュラルミンケース包装のゆうパックにて送付した（2017 年 1 月、第 1 回）。

さらに、同年 10 月、再度参加を希望する 28 地研を対象に同調査を実施した（第 2 回）。両調査では各地研の方法で HIV 検査を実施後、E メールにて東京都健康安全研究センターに回答用紙を送付することとし、各地研から送られてきた回

答結果を集計し、解析した。

<p><b>2016年9月 HIV検査に係るアンケート調査</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・地方衛生研究所全国協議会所属の81施設を対象</li> <li>・回答数：70施設 (86.4%)</li> <li>・精度管理への参加希望調査も実施</li> </ul>
<p><b>2017年1月 第1回 HIV検査精度管理実施</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・参加希望があった51施設に実施案内を送付</li> <li>・参加施設数：40施設</li> <li>・血漿4検体、アンケートを送付</li> </ul>
<p><b>2017年10月 第2回 HIV検査精度管理実施</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・第1回に参加した40施設に実施案内を送付</li> <li>・参加施設数：30施設 (最終回答数：28施設)</li> <li>・血漿4検体、アンケートを送付</li> </ul>

図1. アンケート調査及びHIV検査精度管理の実施概要

## 2. 精度管理後のアンケート調査

第1、2回精度管理終了後に、精度管理調査の難度等を問う簡単なアンケート調査を実施した。

(倫理面への配慮)

本研究は、東京都健康安全研究センター倫理委員会にて承認されている。

## C.研究結果

### 1. 精度管理調査 (第1、2回) の概要

各精度管理用検体として血漿4本 (各1mL) を送付した (図2、3、4)。第1回および第2回の調査検体の内訳は、陽性検体3本 (WB法で陽性検体：2本、WB法で判定保留/核酸増幅検査陽性検体：1本)、陰性検体1本である。

各調査では、各地研の担当者が検査想定を選択して実施することとした (図5)。第1回では40施設中25施設がスクリーニング検査から確認検査まで実施することとし、13施設は確認検査から実施、2施設はスクリーニング検査のみの実施であった。第2回では19施設がスクリーニング検査から確認検査まで、9施設が確認検査からの実施であった。なお、確認検査からの実施の施設では、第1回では13施設中10施設が、第2回では9施設中8施設が追加検査を実施していた (図5)。

<第1回>

Lot	サンプル	蓋の色
TEQS2016-01	血漿	赤
TEQS2016-02	血漿	黄
TEQS2016-03	血漿	緑
TEQS2016-04	血漿	白

<第2回>

Lot	サンプル	蓋の色
TEQS2017-01	血漿	赤
TEQS2017-02	血漿	黄
TEQS2017-03	血漿	緑
TEQS2017-04	血漿	白

- ・各回とも、シュールミン容器を使用し、「ゆうパック (チルド)」にて送付
- ・サンプル量：1mL (HIV陰性血漿またはHIV陽性血漿【市販品】)

図2. HIV検査精度管理用送付検体

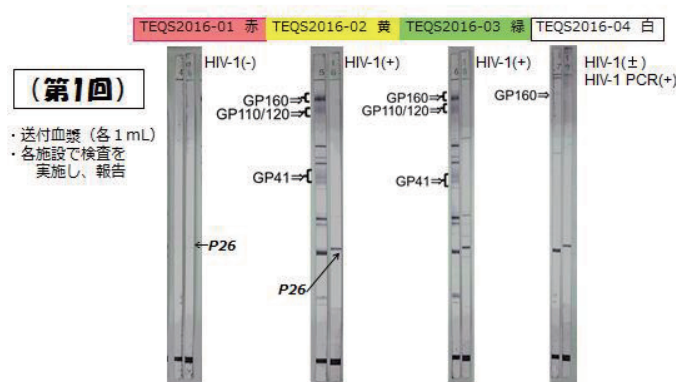


図3. WB法～検出バンドと結果の解釈 (第1回)

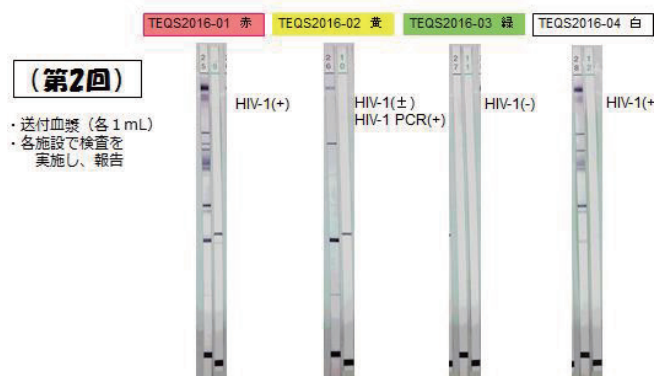


図4. WB法～検出バンドと結果の解釈 (第2回)

### 2. 第1回精度管理調査結果

第1回調査では、01検体が陰性、02検体が陽性 (HIV-1 WB法陽性、核酸増幅検査±)、03検体が陽性 (HIV-1 WB法陽性、核酸増幅検査±)、04検体が判定保留 (HIV-1 WB法判定保留、核酸

増幅検査陽性)の想定で実施した。当センターで実施した各キットの検査結果は図6に示す通りである。

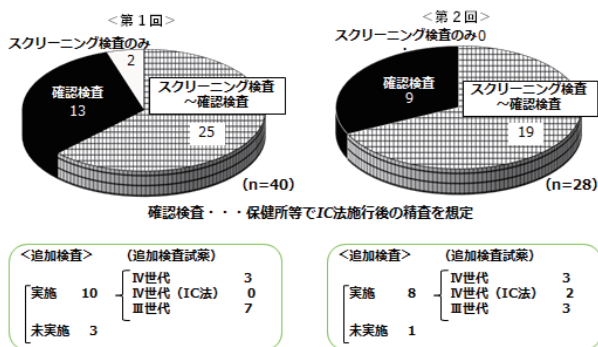


図5. 精度管理にあたっての検査想定

測定装置	検体キット名	TEGS2016-01 黒	TEGS2016-02 黄	TEGS2016-03 緑	TEGS2016-04 白
ELISA	ウェンスクリーンHIV Acs/Ab ULT	(-)	(+)	(+)	(+)
ELFA	ハイダススクリーンHIVデュオII	(-)	(+)	(+)	(+)
IC	ダイナススクリーンHIV Combo	(-)	As (-) / Ab (+)	As (-) / Ab (+)	As (-) / Ab (+)
IC	エスプライムHIV Acs/Ab	(-)	As (-) / Ab (+)	As (-) / Ab (+)	As (-) / Ab (+)
PA	ウェネディックHIV-1/233ツックSPA	(-)	(+)	(+)	(+)
WB	ラププロット1	(-)	(+)	(+)	(+)
WB	ラププロット2	(±)	(±)	(±)	(±)
ウェネディック HIV-1/2	ペプテラプ1.2	(-)	HIV-1 (++) HIV-2 (-)	HIV-1 (++) HIV-2 (-)	HIV-1 (+) HIV-2 (±)
PCR	IQ <sup>2</sup> -TachMan	(-)	(±) 陽性保留	(±) 陽性保留	(+)
PCR	コバチンHIV-1 (コト) v2.0	(-)	(±) 陽性保留	(±) 陽性保留	(+)
判定	陽性	陽性	HIV-1陽性/判定保留	HIV-1陽性	HIV-1陽性
判定との一致率	HIV-1 (WB)	10/10	38/38	38/38	27/38
	HIV-2 (WB)	7/10	27/31	21/32	25/30
	HIV-1 (遺伝子検査)	5/6	3/7	3/7	10/10
	判定一致率	37/40(92.5%)	38/40(95%)	29/40(72.5%)	39/40(97.5%)

図6. 検査試薬別結果 第1回精度管理 (2017年1月実施)

スクリーニング検査のみの参加2施設は全ての検体で正答回答であった。

確認検査を実施した38施設について、検査の一致率をHIV-1 WB法、HIV-2 WB法、HIV-1 遺伝子検査、最終的な判定に分けて解析したところ、HIV-1 WB法では01~03検体の一致率は100%であったが、04検体では38施設中28施設の一一致(73.7%)であった。

HIV-2 WB法では、01検体では実施10施設中7施設が陰性、3施設が判定保留とし、02検体では実施した31施設中27施設は判定保留、4施設が陽性と判定していた。03検体では実施した32施設中21施設が判定保留としたが、11施設は陽性としていた。04検体では実施した30施設中26施設は判定保留としたが、4施設は陰性としていた。

HIV-1 遺伝子検査では、04検体の核酸増幅検査

測定装置	検体キット名	TEGS2017-01 黒	TEGS2017-02 黄	TEGS2017-03 緑	TEGS2017-04 白
ELISA	ウェンスクリーンHIV Acs/Ab ULT	(+)	(+)	(-)	(+)
ELFA	ハイダススクリーンHIVデュオII	(+)	(+)	(-)	(+)
IC	ダイナススクリーンHIV Combo	As (-) / Ab (+)	As (-) / Ab (+)	(-)	As (-) / Ab (+)
IC	エスプライムHIV Acs/Ab	As (-) / Ab (+)	As (-) / Ab (+)	(-)	As (-) / Ab (+)
PA	ウェネディックHIV-1/233ツックSPA	(+)	(+)	(-)	(+)
WB	ラププロット1	(+)	(±)	(-)	(+)
WB	ラププロット2	(±)	(±)	(-)	(±)
ウェネディック HIV-1/2	ペプテラプ1.2	HIV-1 (++) HIV-2 (-)	HIV-1 (+) HIV-2 (-)	(-)	HIV-1 (++) HIV-2 (±)
PCR	IQ <sup>2</sup> -TachMan	(+)	(+)	(-)	(+)
PCR	コバチンHIV-1 (コト) v2.0	(+)	(+)	(-)	(+)
判定	陽性	HIV-1陽性	HIV-1陽性/判定保留	陽性	HIV-1陽性
判定との一致率	HIV-1 (WB)	28/28	28/28	28/28	28/28
	HIV-2 (WB)	20/22	20/22	8/8	27/28
	HIV-1 (遺伝子検査)	6/6	10/10	4/4	5/5
	判定一致率	28/28 (100%)	28/28 (100%)	28/28 (100%)	27/28 (96.4%)

図7. 検査試薬別結果 第2回精度管理 (2017年10月実施)

の実施施設は10施設あり、そのうち全施設が陽性と判定していた。02および03検体については7施設が実施しており、うち3施設が陽性と判定していた。一方で、01検体についても6施設が遺伝子検査を実施しており、5施設は陰性と判定していた。

WB法やHIV-1 遺伝子検査の結果から得られた最終的な判定で、01検体を「陰性」と判定した施設は92.5%であった。また、02および03検体は「HIV-1 陽性」、04検体は「判定保留」または「HIV-1 陽性」の判定と想定したが、02検体では95.0%が一致、03検体では72.5%、04検体は97.5%の一致であった。

集計後、精度管理調査に参加した全ての施設に、当センターが実施した解答例やHIV精度管理検査結果の考え方について、担当者宛にメールにて情報を提供し、学習の機会とした。

### 3. 第2回精度管理調査結果

第2回調査では、01、04検体が陽性、02検体が判定保留、03検体を陰性の想定で実施した。当センターで実施した各検査結果は図7に示す通りである。

28施設について判定との一致率をHIV-1 WB法、HIV-2 WB法、HIV-1 遺伝子検査、判定に分けて解析したところ、HIV-1 WB法では01~04

検体の一致率は100%であった。

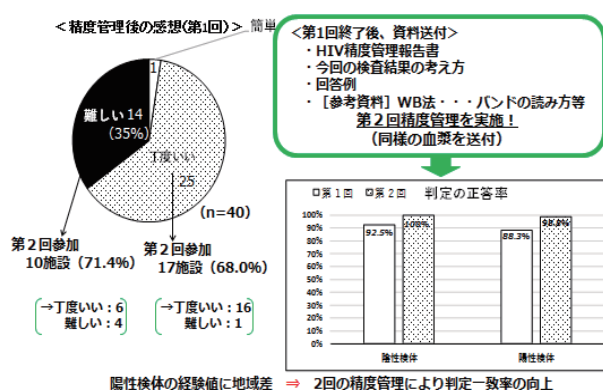


図 8.地方衛生研究所における HIV 検査精度管理 (第 1、2 回)

HIV-2 WB 法では、01～03 検体の一致率は 100% であったが、04 検体では 1 施設のみ判定が異なっていた。また、HIV-1 遺伝子検査では 01～04 検体の一致率は 100% であった。

最終的な判定については、01 検体を「HIV-1 陽性」、02 検体を「判定保留」または「HIV-1 陽性」と判定した施設は 100%、03 検体を「陰性」と判定した施設は 100% であったが、04 検体を「HIV-1 陽性」とした施設は 96.4% であった。

#### 4. 精度管理後のアンケート調査

精度管理後に各地研に対しアンケート調査を実施し、難度について問うたところ (図 8)、第 1 回目では 62.5% が「丁度いい」、35% が「難しい」と回答した。第 1 回目に「丁度いい」と回答したうちの 68% が第 2 回に参加し、うち 94.1% が「丁度いい」と回答した。また、「難しい」と回答したうちの 71.4% が第 2 回に参加し、うち 40% が難しいと回答した。

#### D. 考察

HIV 感染症の確認検査においては、抗体検査では WB 法、抗原検査としては HIV-1 の核酸増幅検査が用いられている。WB 法は客観性に優れている反面、検出感度の面では劣っており、注意が必要である。

今回の調査で、HIV-1 WB 法の判定についてみると、全体的に検出バンド数が多いような検体では、各施設での判定に間違いはなかったが、04 検体のような感染初期等の WB 法におけるバンド数の少ない検体の判定については、10 施設が陽性、1 施設は陰性としたように、想定外に判定でバラツキがみられた。04 検体については、WB 法で陰性または陽性と判定することに我々は疑問を持っており、核酸増幅検査を併用すべきであると思われる。実施せずに WB 法で判定した施設が意外に多いことを考えると、核酸増幅検査をできる限り実施したくない下地が感じられた。

近年の HIV の検査キットは迅速化、高感度化、特異性が高くなったのに対し、WB 法の進歩はほとんどない。従って、スクリーニング検査陽性で WB 法が判定保留または陰性の場合には、核酸増幅検査を実施すべきである。一般に、核酸増幅検査としては「コバス TaqMan 法」を指すが、地方衛生研究所における機器の設置率は低く、地方衛生研究所向けの検査マニュアルに記載された

「KK TaqMan 法」を採用している施設が多い。しかしながら、この方法は感度の維持管理や精度保証の面でやや不安を生じる場合があるため、地研における HIV の核酸増幅検査については、研修等を通じ注意喚起が必要と考える。

また、HIV-2 WB 法の判定においては、2 つの問題点が認められた。1 点目は陰性検体での偽反応を判定保留とした施設があった点である。各ガイドラインで示されているように、確認検査の実施前にスクリーニング検査 (追加検査) を実施し、陰性であれば WB 法の実施は不要であるが、最初に WB 法を実施し、バンドが検出されてしまったため、最終判定も判定保留とせざるを得なかった例が見受けられた。2 点目は検出されたバンド数が多いと HIV-2 陽性と判定してしまう傾向が認められたことである。一般に、HIV-1 と HIV-2 は構成蛋白の交差性があるため、HIV-1 陽性例であっても HIV-2 型 WB 法で複数のバンドが検出されることが多い。HIV-1 陽性の場合には HIV-2

WB法では ENV 領域の GP105 や GP140 等のバンドの出現を見ないことが多いことから、GP105 や GP140 等のバンドを確認すること、HIV-1 WB法で検出されたバンド数と HIV-2 WB法とを比較すること、ペプチラブ法を実施すること、等の措置を考慮する必要がある。加えて、国内陽性例の多くは HIV-1 感染であることを知り、自施設内で HIV-1 の確認検査を十分に経験していれば HIV-1 陽性かつ HIV-2 陽性という判定はしにくいと思われた。

HIV 検査はキット化された試薬を用いるため、判定に迷うことが少ないと考えられがちであるが、HIV 検査はきちんとしたアルゴリズムに従って実施されても、経験が浅ければ判断を誤る可能性があることが改めて示唆された。今回のように、HIV 検査に関する精度管理を1年間で2回実施し、2回参加した施設の正答率が著しく高くなったことから、各キットの添付書に任せるのではなく、このような前提を考慮して検査マニュアル等に加筆、充実化するとともに、研修等を通じ教育していく必要性が感じられた。

欧米では既に WB法に代わる目視によらない試薬が利用されており、我が国においてもその発売が待たれるところである。WHO の掲げる 90-90-90 の実現のためにも、定期的に HIV 検査に関する情報を各地研に周知し、保健所における VCT による HIV 検査事業を保持していく必要性が感じられた。

## E. 結論

2016年に実施した全国の81カ所の衛生研究所等を対象に実施した HIV 検査に係るアンケート調査で、HIV 精度管理に参加を希望した施設のうち、40施設に4サンプルをジュラルミンケース包装のゆうパックにて送付した(2017年1月、第1回)。さらに、2017年10月に40施設のうち28施設に同様の調査を実施した(第2回)。

第1回目の一致率は感染初期検体や HIV-1 陽性血清の HIV-2 WB法の判定で一致率がやや低

かったが、第2回目の精度管理調査では一致率が高かった。一致率が低かった原因は WB法における HIV-2 の判定と感染初期例における HIV-1 の核酸増幅検査の実施率が影響していると考えられ、地研における HIV 検査の精度保証のためには、マニュアル等の改訂や研修を通じた以上の点の質の向上が必要と考えられた。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. 長島真美、北村有里恵、秋場哲哉、貞升健志、堅田敦子、臼井久美子:東京都の HIV 感染者・AIDS 患者の動向、病原微生物検出状況、37、3-5、2016
2. 和田耕治、西塚 至、竹下 望、貞升健志、寺田千草、砂川富正、松井珠乃、岸本 剛、前田秀雄:東京 2020 オリンピック・パラリンピック競技大会に関与する自治体における感染症対策のためのリスク評価、日医雑誌、145、1459-1468、2016
3. Ogawa S, Hachiya A, Hosaka M, Matsuda M, Ode H, Shigemi U, Okazaki R, Sadamasu K, Nagashima M, Toyokawa T, Tateyama M, Tanaka Y, Sugiura W, Yokomaku Y, Iwatani Y. : A Novel Drug-Resistant HIV-1 Circulating Recombinant Form CRF76\_01B Identified by Near Full-Length Genome Analysis. AIDS Res Hum Retroviruses. 32、284-289、2016
4. Hattori J, Shiino T, Gatanaga H, Mori H, Minami R, Uchida K, Sadamasu K, Kondo M, Sugiura W; Japanese Drug Resistance HIV-1 Surveillance Network. Characteristics of Transmitted Drug-Resistant HIV-1 in Recently Infected Treatment-Naïve Patients in Japan. J Acquir Immune Defic Syndr. 71、367-373、2016

## 2.学会発表

1. 長島真美、近藤真規子、北村有里恵、川畑拓也、松岡左織、新開敬行、貞升健志:全国の地方衛生研究所を対象とした HIV 検査に係るアンケート調査と精度管理、第 31 回日本エイズ学会学術集会・総会、2017(東京)
2. 椎野禎一郎、健山正男、石原美紀、南 留美、蜂谷敦子、横幕能行、吉田 繁、近藤真規子、貞升健志、古賀道子、森 治代、杉浦 互、吉村和久:国内伝播クラスタの検索プログラムの開発1:未知の塩基配列の所属する伝播クラスタの解析力の検証、第 31 回日本エイズ学会学術集会・総会、2017(東京)
3. 本間隆之、岩橋恒太、堅多敦子、貞升健志、長島真美、清古愛弓、生島 嗣、岳中美江、市川誠一、今村顕史:東京東部地域における MSM 向け HIV 検査・相談会「快速あんしん検査上野駅」の実施、第 31 回日本エイズ学会学術集会・総会、2017(東京)
4. 岩橋恒太、本間隆之、堅多敦子、貞升健志、長島真美、清古愛弓、生島 嗣、岳中美江、市川誠一、今村顕史:東京東部地域における MSM 向け HIV 検査・相談会「快速あんしん検査上野駅」の啓発の構成、第 31 回日本エイズ学会学術集会・総会、2017(東京)
5. 近藤真規子、佐野貴子、長島真美、貞升健志、蜂谷敦子、横幕能行、林田庸総、瀧永博之、渡邊 大、吉村幸浩、立川夏夫、岩室紳也、井戸田一朗、今井光信、加藤真吾、椎野禎一郎、吉村和久:日本で流行する HIV-1 CRF01\_AE と周辺アジア諸国における流行株との関連、第 31 回日本エイズ学会学術集会・総会、2017(東京)
6. 岡崎玲子、蜂谷敦子、瀧永博之、渡邊 大、長島真美、貞升健志、近藤真規子、南 留美、吉田 繁、小島洋子、森 治代、内田和江、椎野禎一郎、加藤真吾、豊嶋崇徳、佐々木悟、伊藤俊広、猪狩英俊、寒川 整、石ヶ坪良明、太田康男、山元泰之、古賀道子、林田庸総、岡 慎一、松田昌和、重見 麗、濱野章子、横幕能行、渡邊珠代、藤井輝久、高田清武、山本政弘、松下修三、藤田次郎、健山正男、岩谷靖雅、吉村和久:国内新規 HIV/AIDS 診断症例における薬剤耐性 HIV-1 の動向、第 31 回日本エイズ学会学術集会・総会、2017(東京)
7. 今村顕史、福島一彰、堅多敦子、土屋菜歩、本間隆之、貞升健志:梅毒啓発を利用した新たな HIV 受検勧奨法についての検討、第 31 回日本エイズ学会学術集会・総会、2017(東京)
8. 貞升健志:本邦での HIV 検査の現状、第 65 回日本感染症学会東日本地方学術集会、2016(新潟)
9. 長島真美、北村有里恵、鈴木康規、根岸あかね、神門幸大、吉田 勲、加來英美子、秋場哲哉、貞升健志:東京都内公的検査機関の HIV 検査で検出された CRF07\_BC の解析、第 30 回日本エイズ学会学術集会・総会、2016(鹿児島)
10. 川畑拓也、長島真美、小島洋子、森 治代、貞升健志、駒野 淳:IC 法を利用した新しい抗原抗体迅速検査試薬の急性感染期検体を用いた評価、第 30 回日本エイズ学会学術集会・総会、2016(鹿児島)
11. 松岡佐織、長島真美、森 治代、川畑拓也、貞升健志:日本国内の HIV 感染者数の推定、第 30 回日本エイズ学会学術集会・総会、2016(鹿児島)
12. 三宅啓文、高野弘紀、島田信子、新開敬行、貞升健志:梅毒 RPR カード法と自動化法の定量値の比較、日本性感染症学会第 29 回学術大会、2016(岡山)
13. 川畑拓也、森 治代、小島洋子、古林敬一、長島真美、貞升健志:新しい IC 法 HIV 抗原・抗体迅速検査試薬の抗原検出が診断に有用だった HIV 急性感染期の一事例、日本性感染症学会第 29 回学術大会、2016(岡山)
14. 岡崎玲子、蜂谷敦子、瀧永博之、渡邊 大、長島真美、貞升健志他:国内新規 HIV/AIDS 診断症例における薬剤耐性 HIV-1 の動向、第 30 回日本エイズ学会学術集会・総会、2016(鹿児島)
15. 椎野禎一郎、蜂谷敦子、瀧永博之、吉田 繁、近藤真規子、貞升健志、横幕能行、古賀道子、田邊嘉也、渡邊 大、森 治代、南 留美、健山正男、杉浦 互、吉村和久:国内 MSM におけるエイズ患者は伝播ネットワークのどこに多く含まれるか?、第 30 回

日本エイズ学会学術集会・総会、2016(鹿児島)

16. 和田耕治、西塚 至、貞升健志、寺田千草、砂川富正、岸本 剛、前田秀雄:東京 2020 オリパラ競技大会に關与する自治体における感染症対策のためのリスク評価、第 75 回日本公衆衛生学会、2016(大阪)

**H.知的所有權の出願・登録状況 (予定を含む)**

なし